

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. Dezember 2001 (13.12.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/94393 A2

(51) Internationale Patentklassifikation: C07K 14/415

(74) Anwalt: MAIWALD, Walter; Maiwald Patentanwalts
GmbH, Elisenhof, Elisenstrasse 3, 80335 München (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/06586

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. Juni 2001 (11.06.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 28 212.1 9. Juni 2000 (09.06.2000) DE
100 53 478.3 24. Oktober 2000 (24.10.2000) DE
101 13 781.8 21. März 2001 (21.03.2001) DE

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): IPK INSTITUT FÜR PFLANZENGENETIK UND KULTURPFLANZENFORSCHUNG [DE/DE]; Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SCHELLER, Jürgen [DE/DE]; Zwischen den Städten 1, 06484 Quedlinburg (DE). CONRAD, Udo [DE/DE]; Feldstrasse 10, 06458 Hausneindorf (DE). GROSSE, Frank [DE/DE]; Westendstrasse 20, 07743 Jena (DE). GUEHRS, Karl-Heinz [DE/DE]; Hermann-Löns-Strasse 36, 07745 Jena (DE).

Veröffentlicht:

-- ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SYNTHETIC SPIDER SILK PROTEINS AND THE EXPRESSION THEREOF IN TRANSGENIC PLANTS

(54) Bezeichnung: SYNTHETISCHE SPINNENSEIDENPROTEINE UND DEREN EXPRESSION IN TRANSGENEN PFLANZEN

(57) Abstract: The invention relates to a DNA sequence coding for a synthetic protein, and recombinant spider silk proteins which are coded by the inventive DNA sequence. The invention also relates to methods for producing plants or plant cells containing the recombinant spider silk protein, and transgenic plants and cells containing a DNA sequence coding for a synthetic spider protein. The invention further relates to a method for obtaining a vegetable spider silk protein from transgenic plants, in addition to vegetable spider silk proteins produced according to said method.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine DNA-Sequenz, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert, rekombinante Spinnenseidenproteine, die durch die erfindungsgemässe DNA-Sequenz kodiert sind, Verfahren zur Herstellung von Pflanzen bzw. Pflanzenzellen, die rekombinantes Spinnenseidenprotein enthalten sowie transgene Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine DNA-Sequenz enthalten, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert. Des weiteren betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Gewinnung von pflanzlichem Spinnenseidenprotein aus transgenen Pflanzen sowie pflanzliche Spinnenseidenproteine, die nach einem derartigen Verfahren hergestellt worden sind.

WO 01/94393 A2

Synthetische Spinnenseidenproteine und deren Expression in transgenen Pflanzen

- 5 Die Erfindung betrifft eine DNA-Sequenz, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert, rekombinante Spinnenseidenproteine, die durch die erfindungsgemäße DNA-Sequenz kodiert sind, Verfahren zur Herstellung von Pflanzen bzw. Pflanzenzellen, die rekombinantes Spinnenseidenprotein enthalten sowie transgene Pflanzenzellen und Pflanzen, die eine DNA-Sequenz enthalten, die
- 10 für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert. Des weiteren betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Gewinnung von pflanzlichem Spinnenseidenprotein aus transgenen Pflanzen sowie pflanzliche Spinnenseidenproteine, die nach einem derartigen Verfahren hergestellt worden sind.
- 15 Spinnenseide weist hervorragende mechanische Eigenschaften auf, die jene vieler bekannter natürlicher und künstlicher Materialien übertrifft. Hauptbestandteile der Spinnenseide sind Faserproteine wie beispielsweise Fibroin aus dem Seidenspinner sowie Spidroin 1 und Spidroin 2 aus *Nephila clavipes*. Die Festigkeit und Elastizität der Seide beruht auf der Gegenwart von kurzen repetitiven Aminosäure-Einheiten,
- 20 die in diesen natürlichen Proteinen vorliegen. Diese mechanischen Eigenschaften prädestinieren die Spinnenseide für eine Reihe von verschiedensten technischen Anwendungen wie beispielsweise die Herstellung von stabilen Fäden bzw. Seiden. Ferner verfügen die Spinnenseidenfäden aufgrund ihrer proteinchemischen Eigenschaften über ein geringes immunogenes und allergenes Potential, weshalb sich
- 25 in Kombination mit den mechanischen Eigenschaften eine Anwendung in der Medizin beispielsweise als natürliches Garn zum Vernähen von Wunden, als Anheftungsflächen für kultivierte Zellen, als Gerüste für künstliche Organe und dergleichen anbietet.
- 30 Voraussetzung für eine derartige technische bzw. medizinische Nutzung der Spinnenseide ist jedoch die Herstellung von Spinnenfäden bzw.

- 2 -

Spinnenseidenproteinen in großem Maßstab. Zu diesem Zweck wurde bislang versucht, die für die Produktion der Spinnenseide verantwortlichen Spidroin- bzw. Fibroingene in *E. coli* zu exprimieren. Die sich häufig wiederholenden Sequenzen in den entsprechenden Genen gehen jedoch bei der Reproduktion in Bakterien nach und
5 nach verloren. Ein weiteres Problem ist die Größe der genetischen Information, die für das Bakterium zu umfangreich zu sein scheint, so daß die Spinnenseiden-Gene nicht immer vollständig ausgelesen werden.

Versuche der Expression in Hefezellen ergaben zwar stabilere und längere
10 Seidenproteine, die Fäden, die daraus gesponnen wurden, weisen jedoch nicht die selben vorteilhaften Eigenschaften der natürlichen Seide auf, so daß beispielsweise eine medizinische Anwendung einer derart synthetisch hergestellten Seide nicht möglich ist. Es besteht somit ein Bedarf an synthetischen Seidenproteinen, die in technischem Maßstab hergestellt werden können und nach dem Verspinnen zu Fäden
15 mechanische Eigenschaften aufweisen, die mit jenen der natürlichen Seide vergleichbar sind.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, DNA-Sequenzen bereitzustellen, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodieren, das eine möglichst große
20 Ähnlichkeit mit den bisher bekannten natürlichen Sequenzen von Faserproteinen der Spinnenseide aufweist. Ferner ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein Verfahren bereitzustellen, mit dem synthetische Spinnenseidenproteine in großem Maßstab hergestellt werden können.

25 Aufgabe der Erfindung ist es auch, DNA-Sequenzen bereitzustellen, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodieren, das zwar die vorteilhaften und wünschenswerten Eigenschaften von nativem Spinnenseidenprotein aufweist, bei dem das Eigenschaftsspektrum des nativen Proteins aber zusätzlich in die eine oder

- 3 -

andere Richtung, je nach dem jeweiligen Anwendungszweck, modifiziert bzw. optimiert ist.

Weitere Aufgaben der vorliegenden Erfindung ergeben sich aus der folgenden

5 Beschreibung.

Oben genannte Aufgaben werden durch die Merkmale der unabhängigen Schutzansprüche gelöst.

10 Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen definiert.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wird jetzt eine DNA-Sequenz offenbart, die für ein synthetisches Faserprotein, insbesondere ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert, das eine mindestens 80%ige, vorzugsweise mindestens

15 84%ige, mehr bevorzugt mindestens 88%ige, besonders bevorzugt mindestens 90%ige und 92%ige, am meisten bevorzugt mindestens 94%ige Homologie zu Spidroin- und/oder Fibroin-Proteinen, insbesondere zu dem Spidroin 1-Protein, besonders bevorzugt zu dem Spidroin 1-Protein aus *Nephila clavipes* aufweist.

20 Homologie bedeutet im Rahmen dieser Erfindung Ähnlichkeit zwischen Aminosäuresequenzen aufgrund von identischen bzw. homologen Aminosäurebausteinen. Welche Aminosäuren als homolog anzusehen sind, ist dem Fachmann bekannt, z.B. (i) Isoleucin, Leucin und Valin untereinander, (ii) Asparagin und Glutamin, (iii) Asparaginsäure und Glutaminsäure.

25

Die erfindungsgemäße DNA-Sequenz ist aus Modulen aufgebaut, die eine Gruppe von aneinandergereihten Oligonukleotidsequenzen umfassen, wobei die

Oligonukleotidsequenzen jeweils für repetitive Einheiten aus Spidroin- und/oder Fibroin-Proteinen kodieren.

Der Aufbau der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz aus verschiedenen Modulen,
5 welche wiederum aus unterschiedlichen, für Spidroine bzw. Fibroine typischen
kurzen Aminosäure-Repeats konstruiert sind, wobei sich das Prinzip der
Aneinanderreihung der entsprechenden Oligonukleotidsequenzen bzw. der Module
an natürlichen Spidroin- und/oder Fibroin-Sequenzen orientiert, gewährleistet eine
sehr hohe Homologie zu bisher bekannten natürlichen Spidroin- bzw. Fibroin-
10 Sequenzen. Dadurch wird sichergestellt, daß die durch die erfindungsgemäße
DNA-Sequenz kodierten Spinnenseidenproteine nach dem Verspinnen zu Fäden
hervorragende mechanische Eigenschaften bezüglich ihrer Festigkeit und Elastizität
aufweisen, die mit den mechanischen Eigenschaften von natürlichen Spinnenfäden
vergleichbar sind.

15 Des weiteren ermöglicht der modulartige Aufbau der erfindungsgemäßen
DNA-Sequenz eine einfache gentechnische Modifizierung der synthetischen Gene,
so daß Multimere von synthetischen Spinnenseidenproteinen mit beliebiger Größe je
nach Wunsch hergestellt werden können. Ferner können die durch die
20 erfindungsgemäße DNA-Sequenz kodierten Spinnenseidenproteine aufgrund des
modulartigen Aufbaus mit anderen Faserproteinsequenzen fusioniert werden. Ein
besonderer Vorteil der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz ist, daß sie aufgrund ihres
modulartigen Aufbaus auf einfache Weise mit für Reinigungselemente oder
Löslichkeits-verändernde Peptide kodierenden Sequenzen fusioniert werden kann.

25

Die Erfindung betrifft auch DNA-Sequenzen, die für ein synthetisches
Spinnenseidenprotein kodieren und aus Modulen aufgebaut sind, die eine Gruppe
von aneinandergereihten Oligonukleotidsequenzen umfassen, wobei die

- 5 -

Oligonukleotidsequenzen jeweils für repetitive Einheiten aus Spidroin-Proteinen kodieren und die Module in freier Weise angeordnet sind, wobei die freie Anordnung ermöglicht, daß das synthetische Spinnenseidenprotein ein im Vergleich zu nativem Spinnenseidenprotein verändertes Eigenschaftsspektrum aufweist.

5

Die Erfindung liefert somit erstmals die Möglichkeit, neuartige Seidenproteine auf der Grundlage von modular aufgebauten Seidenproteingenen zu synthetisieren, wobei die neuartigen Seidenproteine ein im Vergleich zu nativem Seidenprotein modifiziertes Eigenschaftsspektrum aufweisen, gleichzeitig aber die wesentlichen

10 Strukturdeterminanten von natürlich vorkommenden Seidenproteinen enthalten. Ausgehend vom Erhalt der wesentlichen strukturellen Abschnitte der natürlichen Seidenproteine, die erfindungsgemäß in neuartiger Weise miteinander kombiniert werden, werden synthetische Seidenproteine bereitgestellt, die bspw. hinsichtlich ihrer Elastizität, ihrer Reißfestigkeit, ihres Löslichkeitsverhalten, ihrer Hitze- und

15 Säurebeständigkeit, ihres Quellungsvermögens in eine bestimmte, für den jeweiligen Einsatz vorteilhafte Richtung modifiziert bzw. optimiert sind.

So können bestimmte Anordnungen der erhaltenen synthetischen Proteine das erhaltene Protein für eine bestimmten Zweck besonders geeignet machen. Alternativ

20 kann natürlich nach einem für eine bestimmte Anwendung besonders geeigneten Protein, z.B. mit einer im Vergleich zum nativen Protein erhöhten Elastizität, gescreent werden. Eine erhöhte Elastizität kann z.B. dadurch erreicht werden, daß gezielt mehr elastische Module anstelle von festen Modulen für den Aufbau eingesetzt werden.

25

In jedem Fall läßt sich die Eigenschaftskombination, welche die materialtechnische Attraktivität und Nützlichkeit der erfindungsgemäßen rekombinanten

Spinnenseidenproteine als Werkstoff ausmacht, durch die Anordnung der Module in

- 6 -

gewünschten Grenzen beeinflussen, ohne sich jedoch zu stark von dem attraktiven Eigenschaftsspektrum des zugrunde liegenden natürlichen Proteins zu unterscheiden.

- Die Genkassette mit der höchsten Homologie zur aus dem nativen Wirt isolierten cDNA, SO1 genannt, weist die nachfolgende Kombination der als Modul (mit verschiedenen Buchstaben dargestellt) bezeichneten strukturellen Abschnitte auf:

H_B_C_B_C_G_D_C_G_D_C_B_C_B_B_G_D_B_C

- 10 (siehe auch Abbildung 3). Im Gegensatz zu den Ansätzen im Stand der Technik in Bezug auf Spinnenseiden und Naturseiden ermöglicht die erfindungsgemäße Lehre zur Assemblierung der Genkassetten eine neuartige und gezielte Anordnung dieser Module in vollständig freier Weise. Dadurch können vollkommen neuartige Proteine erzeugt werden, aber auch das natürlich vorkommende Protein nachgebaut werden.
- 15 Neben der oben für die natürlich vorkommende Sequenz gezeigten Modulabfolge sind damit nun auch beliebige Variationen in beliebiger Anordnung möglich, wie z.B. die folgenden, die jeweils Proteine mit unterschiedlichen Eigenschaften ergeben:

$$H_n \neq B_n \neq C_n \neq D_n \neq (H_x B_y)_n \neq (H_x C_y)_n \neq \dots \neq (H_i B_j C_k D_l)_n.$$

20

Ausführungsbeispiele für die Möglichkeit der Erstellung derartiger Konstruktionen und für die unterschiedlichen Eigenschaften der resultierenden Proteine können den unten stehenden Beispielen entnommen werden.

- 25 Zusätzlich zu den bereits genannten Eigenschaften, die modifiziert bzw. optimiert werden können, kann bspw. durch zusätzliche RGD-Sequenzen eine verstärkte Anheftung von Zellen erreicht werden (Massia et al. (2001) J. Biomed. Mater. Res. 56.390-399). Weitere nützliche Eigenschaften der synthetischen

- 7 -

Spinnenseidenproteine gemäß der Erfindung ergeben sich auch der nachfolgenden Beschreibung und den Beispielen.

Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung weist
5 das durch die erfindungsgemäße DNA-Sequenz kodierte Spinnenseidenprotein eine
mindestens 84%ige, vorzugsweise mindestens 90 %ige und besonders bevorzugt
mindestens 94 %ige Homologie zu dem Spidroin 1-Protein aus *Nephila clavipes* auf.
Spidroin 1 aus *Nephila clavipes* ist wesentlich am Aufbau eines mechanisch
besonders stabilen und elastischen Tragfadens beteiligt.

10

Aufgrund des modulartigen Aufbaus der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz ist die
Konstruktion von Genen, die sehr große Spinnenseidenproteine kodieren, ohne
weiteres möglich, wobei die hohe Homologie zu Spidroin- und/oder Fibroin-
Proteinen, insbesondere zu Spidroin 1, besonders bevorzugt zu Spidroin 1 von
15 *Nephila clavipes* immer erhalten bleibt. Die so erzielbare Größenverteilung der
durch die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen kodierten Proteine entspricht dem
Spektrum von Spinnenseidenproteinen, das nach der Auflösung von natürlicher
Spinnenseide beobachten werden kann. Dieses identische Größenspektrum sowie
die hohe Sequenzhomologie definieren die erfindungsgemäßen synthetischen Gene
20 als Gene, die für Spinnenseidenproteine kodieren. Im Gegensatz zu natürlicher
Spinnenseide, die aus einem Gemisch von Spinnenseidenproteinen besteht, werden
durch die vorliegende Erfindung Spinnenseidenprotein-Gene bereitgestellt, die mit
hoher Homologie eine Genklasse repräsentieren und eine einfache gentechnische
Manipulation erlauben.

25

Die Module zum Aufbau der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz umfassen eine
Gruppe von aneinandergereihten Oligonukleotidsequenzen, die vorzugsweise
ausgewählt sind aus der Gruppe, bestehend aus:

- a) TATGAGCGCTCCCGGGCAGGGT;
b) AGCTTTTAGGTACCAATATTAATCTGGCCGGCTCCACC;
c) TATGGTCTGGGG;
5 d) GGCCAGGGTGCTGGCCAA;
e) GGTGCAGGAGCWGCWGCWGCWGCTGCAGGTGGA;
f) GCCGGCCAGATTAATATTGGTACCTAAA;
g) CTGCCCCGGGAGCGCTCA;
h) ACCACCATAACCTCC;
10 i) AGCACCCTGGCCCCCAG;
j) TGCAGCWGCWGCWGCWGCTCCTGCACCTTGGCC;
k) TATGAGATCTGGCCAAGGAGGT;
l) TTGGCCAGATCTCA;
m) AGTCAGGGTGCTGGTTCGTGGAGGCCAA;
15 n) TCCACGACCAGCACCCCTGACTCCCCAG;
o) AGTCAGGGCGCTGGTTCGTGGGGGACTGGGTGGCCAA;
p) ACCCAGTCCCCCACGACCAGCGCCCTGACTCCCCAG;
q) CTGGGAGGGCAGGGAGCGGGCCAA;
r) CGCTCCCTGCCCTCCCAGACCTCC; und
20 s) Sequenzen, die zu den Sequenzen a) bis r) eine mindestens 80%ige, vorzugsweise
mindestens 90%ige, besonders bevorzugt mindestens 94%ige Sequenzidentität
aufweisen.

Die Module umfassen vorzugsweise mindestens vier Oligonukleotidsequenzen, die sich vorzugsweise unterscheiden, um die natürlichen Spinnenseidenproteine auf authentische Weise nachzugestalten. Die erfindungsgemäße DNA-Sequenz ist wiederum vorzugsweise aus mindestens vier der vorstehend beschriebenen Module aufgebaut.

- 9 -

Der Aufbau der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz wird im folgenden beispielhaft dargestellt. Zunächst werden die in Abbildung 1 angegebenen Oligonukleotide bereitgestellt, die für Aminosäuresequenzen kodieren, die Spidroin-typischen kurzen
5 Aminosäure-Repeats entsprechen. Diese Oligonukleotide werden durch gentechnische Verfahren miteinander kombiniert, wobei sich die Kombination an der natürlichen Spidroin-Sequenz richtet (siehe Abbildung 2). Die so entstandenen Module A, B, C, D, E und F werden erneut miteinander kombiniert (siehe Abbildung 3). Auf diese Weise werden erfindungsgemäße DNA-Sequenzen
10 bereitgestellt, die auf Aminosäureebene eine mindestens 85%ige, vorzugsweise mindestens 90%ige und besonders bevorzugt mindestens 94%ige Homologie zu Spidroin-Proteinen zeigen.

Bei einer weiteren Ausführungsform umfaßt die erfindungsgemäße DNA-Sequenz
15 zusätzlich zu den vorstehend beschriebenen Modulen Nukleinsäuresequenzen, die für repetitive Einheiten aus Fibroin-Proteinen, vorzugsweise aus dem Fibroin-Protein des Seidenspinners kodieren.

Besonders bevorzugte erfindungsgemäße DNA-Sequenzen weisen die Sequenzen
20 SEQ ID No. 19 bis 29 auf.

Erfindungsgemäß ist es ferner überraschenderweise erstmals gelungen, synthetische Spinnenseidenproteine in transgenen Pflanzen zu erzeugen. Auf diese Weise können synthetische Spinnenseidenproteine in großem Maßstab hergestellt werden. Um eine
25 stabile Expression der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz in Pflanzen zu gewährleisten, wird erfindungsgemäß ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül bereitgestellt, das die vorstehend beschriebene erfindungsgemäße DNA-Sequenz sowie einen ubiquitär wirkenden Promotor, vorzugsweise den CaMV35S-Promotor

umfaßt. Die Bereitstellung des erfindungsgemäßen rekombinanten Nukleinsäuremoleküls ermöglicht die Expression und Akkumulation von synthetischen Spidroin- bzw. Fibroinsequenzen in transgenen Pflanzen.

- 5 Um sicherzustellen, daß die erfindungsgemäße DNA-Sequenz in geeigneten Kompartimenten von transgenen Pflanzen exprimiert und akkumuliert wird, umfaßt das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül zusätzlich zu der erfindungsgemäßen DNA-Sequenz und einem ubiquitär wirkenden Promotor vorzugsweise mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein pflanzliches Signalpeptid kodiert.

10

Bei einer bevorzugten Ausführungsform wird als Zielkompartiment für die Expression bzw. Akkumulation des synthetischen Spinnenseidenproteins das endoplasmatische Retikulum (ER) ausgewählt. Dieses Kompartiment ist für die stabile Akkumulation von Fremdproteinen in Pflanzen besonders geeignet. Um den

- 15 Transport in das ER zu gewährleisten, umfaßt das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül bevorzugt entsprechende Signalpeptide, besonders bevorzugt die LeB4Sp-Sequenz.

- Die Retention im ER, falls gewünscht, wird erfindungsgemäß dadurch gewährleistet, daß das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül zusätzlich eine Nukleinsäuresequenz umfaßt, die für ein ER-Retentionspeptid kodiert. Vorzugsweise wird die Retention in ER durch die C-terminal angefügte Aminosäuresequenz KDEL erreicht.

- 25 Ferner kann es vorteilhaft sein, die erfindungsgemäße DNA-Sequenz an der Plasmalemma, d.h. der Zellmembran, zu plazieren. Deshalb umfaßt das erfindungsgemäße rekombinante Nukleinsäuremolekül bei einer alternativen Ausführungsform die erfindungsgemäße DNA-Sequenz, fusioniert an den

- 11 -

N-Terminus einer Transmembrandomäne. Vorzugsweise ist diese Transmembrandomäne die Transmembrandomäne des PDGF-Rezeptors, die sogenannte HOOK-Sequenz (siehe Abbildung 4).

- 5 Bei einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül mit ELP's (elastin-like polypeptides) fusioniert. ELP's sind oligomere Repeats des Pentapeptids Val-Pro-Gly-Xaa-Gly (wobei Xaa jede Aminosäure außer Prolin und vorzugsweise Gly ist) und unterliegen einem reversiblen inversen Temperaturübergang. Sie sind in Wasser unterhalb der
- 10 inversen Übergangstemperatur (T_i) sehr gut löslich, unterliegend jedoch einem scharfen Phasenübergang im Bereich von 2°C bis 3°C, wenn die Temperatur über T_i erhöht wird, was zur Ausfällung und Aggregation des Polypeptids führt.
- D. E. Meyer und A. Chilkoti, Nat. Biotech. 1999, 17, 1112-1115, haben beschrieben, daß ELP-Fusionen mit rekombinanten Proteinen das Löslichkeitsverhalten dieser
- 15 rekombinanten Proteine bei verschiedenen Temperaturen und Konzentrationen gezielt verändern. Bei der vorliegenden Erfindung wird dies zur Etablierung von im nachfolgenden detailliert beschriebenen Reinigungsstrategien für das durch die erfindungsgemäße DNA-Sequenz kodierte Spinnenseidenprotein genutzt.
- Vorzugsweise umfassen die durch die Nukleinsäuresequenz in dem
- 20 erfindungsgemäßen Nukleinsäuremolekül kodierten ELP's von 10 bis 100 der vorstehend beschriebenen Pentamer-Einheiten (siehe Abbildung 5).

- Die Herstellung der vorstehend beschriebenen chimären Genkonstrukte bzw. rekombinanten Nukleinsäuremoleküle erfolgt mittels konventioneller
- 25 Klonierungstechniken (siehe beispielsweise Sambrook et al. (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2. Auflage, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York). Mittels dieser gängigen molekularbiologischen Techniken ist es möglich, gewünschte Konstrukte für die Transformation von

Pflanzen vorzubereiten bzw. herzustellen. Die für die gentechnische Manipulation in prokaryontischen Zellen üblicherweise eingesetzten Klonierungs-, Mutagenisierungs-, Sequenzanalyse- und Restriktionsanalyse-Methoden sowie weitere biochemisch-molekularbiologische Methoden sind dem Fachmann
5 wohlbekannt. So können nicht nur geeignete chimäre Genkonstrukte mit der jeweils gewünschten Fusion von Promotor, erfindungsgemäßer DNA-Sequenz, für ein pflanzliches Signalpeptid kodierender Sequenz, für ein ER-Retentionspeptid kodierender Sequenz, für eine Transmembrandomäne kodierender Sequenz und/oder für Reinigungselemente bzw. Löslichkeits-verändernde Peptide kodierenden
10 Sequenzen hergestellt werden. Vielmehr kann der Fachmann mittels Routinetechniken, falls erwünscht, verschiedenartige Mutationen oder Deletionen in die jeweiligen Gene einführen.

Die Erfindung betrifft weiterhin Vektoren und Mikroorganismen, die
15 erfindungsgemäße Nukleinsäuremoleküle enthalten und deren Verwendung die Herstellung von Pflanzenzellen bzw. Pflanzen ermöglicht, die Spinnenseidenproteine produzieren. Dabei handelt es sich bei den Vektoren insbesondere um Plasmide, Cosmide, Viren, Bakteriophagen und andere in der Gentechnik gängige Vektoren. Bei den Mikroorganismen handelt es sich in erster Linie um Bakterien, Viren, Pilze,
20 Hefen und Algen.

Da die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen aufgrund ihres repetitiven Charakters kaum unikale Restriktionsorte aufweisen, wurden die erfindungsgemäßen Vektoren bzw. die das synthetische Spinnenseidenprotein kodierenden Gene durch
25 verschiedene Strategien entsprechend angepaßt (siehe Abbildungen 6 bis 8). Bei der Amplifizierung der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen durch PCR werden aufgrund des extrem repetitiven Charakters der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen

vorzugsweise zunächst Oligonukleotide anligiert, welche dann als Matrizen für die nachfolgenden PCR-Reaktionen dienen (siehe Abbildung 7).

- Des weiteren wird bei der vorliegenden Erfindung ein rekombinantes
- 5 Spinnenseidenprotein bereitgestellt, das durch die erfindungsgemäße DNA-Sequenz kodiert wird. Dieses erfindungsgemäße synthetische Spinnenseidenprotein, vorzugsweise mit einem Molekulargewicht im Bereich von 10 bis 160 kDa, weist eine mindestens 85%ige, vorzugsweise mindestens 90%ige und besonders bevorzugt mindestens 94%ige Homologie zu Spidroin- und/oder Fibroin-Proteinen auf. Durch
- 10 diese hohe Homologie mit den natürlichen Faserproteinen der Spinne und des Seidenspinners wird gewährleistet, daß die herausragenden mechanischen Eigenschaften der natürlichen Spinnenfäden erreicht werden, wenn die erfindungsgemäßen Proteine zu Fäden gesponnen werden.
- 15 Ferner weisen die erfindungsgemäßen Proteine überraschenderweise neuartige physikochemische Eigenschaften auf. So bleibt die Löslichkeit dieser erfindungsgemäßen synthetischen Faserproteine in wäßrigen Lösungen auch nach längerem Kochen außerordentlich gut erhalten. Gemeinsam mit der ebenfalls auftretenden Löslichkeit in organischen Lösungen und dem Fällungsverhalten bei
- 20 hohen Salzkonzentrationen können diese neuen Eigenschaften der erfindungsgemäßen synthetischen Spinnenseidenproteine somit für die Entwicklung technisch durchführbarer Extraktions- und Reinigungsverfahren genützt werden. Diese Eigenschaften werden noch verstärkt, wenn die erfindungsgemäßen synthetischen Spinnenseidenproteine gezielt in bestimmten Kompartimenten,
- 25 insbesondere im ER von transgenen Pflanzen akkumuliert werden.

Beispiele für Aminosäuresequenzen der erfindungsgemäßen rekombinanten synthetischen Spinnenseidenproteine weisen die Sequenzen SEQ ID No. 30 bis 40

auf. Die erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine können alternativ auch nach chemischen, dem Fachmann bekannten Methoden synthetisiert werden, eine rekombinante Herstellung ist jedoch bevorzugt.

5 Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung von Spinnenseidenprotein-produzierenden Pflanzen bzw. Pflanzenzellen, umfassend die folgenden Schritte:

- 10 a) Herstellung eines wie vorstehend beschriebenen erfindungsgemäßen rekombinanten Nukleinsäuremoleküls;
- b) Übertragung des Nukleinsäuremoleküls aus a) auf pflanzliche Zellen; und
- 15 c) gegebenenfalls die Regeneration fertiler Pflanzen aus den transformierten Pflanzenzellen.

Des weiteren betrifft die Erfindung Pflanzenzellen, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle bzw. den erfindungsgemäßen Vektor enthalten. Die Erfindung betrifft ferner Ernteprodukte und Vermehrungsmaterial transgener
20 Pflanzen sowie die transgenen Pflanzen selbst, die ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül enthalten.

Zur Vorbereitung der Einführung fremder Gene in höhere Pflanzen bzw. deren Zellen stehen eine große Anzahl von Klonierungsvektoren zur Verfügung, die ein
25 Replikationssignal für *E. coli* und ein Markergen zur Selektion transformierter Bakterienzellen enthalten. Beispiele für derartige Vektoren sind pBR322, pUC-Serien, M13mp-Serien, pACYC184 usw. Die gewünschte Sequenz kann an einer passenden Restriktionsschnittstelle in den Vektor eingeführt werden. Das erhaltene

- 15 -

- Plasmid wird dann für die Transformation von *E. coli*-Zellen verwendet. Transformierte *E. coli*-Zellen werden in einem geeigneten Medium gezüchtet und anschließend geerntet und lysiert, und das Plasmid wird wiedergewonnen. Als Analysenmethode zur Charakterisierung der gewonnenen Plasmid-DNA werden im
- 5 allgemeinen Restriktionsanalysen, Gelelektrophoresen und weitere biochemisch-molekularbiologische Methoden eingesetzt. Nach jeder Manipulation kann die Plasmid-DNA gespalten und gewonnene DNA-Fragmente mit anderen DNA-Sequenzen verknüpft werden.
- 10 Für die Einführung von DNA in eine pflanzliche Wirtszelle stehen eine Vielzahl von Techniken zur Verfügung, wobei der Fachmann die jeweils geeignete Methode ohne Schwierigkeiten ermitteln kann. Diese Techniken umfassen die Transformation pflanzlicher Zellen mit T-DNA unter Verwendung von *Agrobacterium tumefaciens* oder *Agrobacterium rhizogenes* als Transformationsmedium, die Fusion von
- 15 Protoplasten, die Injektion, die Elektroporation, den direkten Gentransfer isolierter DNA in Protoplasten, die Einbringung von DNA mittels der biolistischen Methode sowie weitere Möglichkeiten die bereits seit mehreren Jahren gut etabliert sind und zum üblichen Repertoire des Fachmanns in der pflanzlichen Molekularbiologie bzw. Pflanzenbiotechnologie gehören.
- 20 Bei der Injektion und Elektroporation von DNA in Pflanzenzellen werden per se keine speziellen Anforderungen an die verwendeten Plasmide gestellt. Ähnliches gilt für den direkten Gentransfer. Es können einfache Plasmide, wie z.B. pUC-Derivate, verwendet werden. Sollen aber aus derartig transformierten Zellen ganze Pflanzen
- 25 regeneriert werden, ist die Anwesenheit eines selektierbaren Markergens empfehlenswert. Dem Fachmann sind die gängigen Selektionsmarker bekannt, und es stellt für ihn kein Problem dar, einen geeigneten Marker auszuwählen.

Je nach Einführungsmethode gewünschter Gene in die Pflanzenzelle können weitere DNA-Sequenzen erforderlich sein. Werden z.B. für die Transformation der Pflanzenzelle das Ti- oder Ri-Plasmid verwendet, so muss mindestens die rechte Begrenzung, häufig jedoch die rechte und linke Begrenzung der im Ti- bzw. Ri-Plasmid enthaltenen T-DNA als Flankenbereich mit den einzuführenden Genen verbunden werden. Werden für die Transformation Agrobakterien verwendet, muss die einzuführende DNA in spezielle Plasmide kloniert werden, und zwar entweder in einen intermediären oder in einen binären Vektor. Die intermediären Vektoren können aufgrund von Sequenzen, die homolog zu Sequenzen in der T-DNA sind, durch homologe Rekombination in das Ti- oder Ri-Plasmid der Agrobakterien integriert werden. Dieses enthält außerdem die für den Transfer der T-DNA notwendige vir-Region. Intermediäre Vektoren können nicht in Agrobakterien replizieren. Mittels eines Helferplasmids kann der intermediäre Vektor auf *Agrobacterium tumefaciens* übertragen werden (Konjugation). Binäre Vektoren können sowohl in *E. coli* als auch in Agrobakterien replizieren. Sie enthalten ein Selektionsmarkergen und einen Linker oder Polylinker, welche von der rechten und linken T-DNA-Grenzregion eingerahmt werden. Sie können direkt in die Agrobakterien transformiert werden. Das als Wirtszelle dienende Agrobakterium soll ein Plasmid, das eine vir-Region trägt, enthalten. Die vir-Region ist für den Transfer der T-DNA in die Pflanzenzelle notwendig. Zusätzliche T-DNA kann vorhanden sein. Das derartig transformierte Agrobakterium wird zur Transformation von Pflanzenzellen verwendet. Die Verwendung von T-DNA für die Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in allseits bekannten Übersichtsartikeln und Handbüchern zur Pflanzentransformation beschrieben worden. Für den Transfer der DNA in die Pflanzenzelle können Pflanzen-Explantate zweckmäßigerweise mit *Agrobacterium tumefaciens* oder *Agrobacterium rhizogenes* kultiviert werden. Aus dem infizierten Pflanzenmaterial (z.B. Blattstücke, Stengel-segmente, Wurzeln, aber auch Protoplasten oder Suspensions-kultivierte Pflanzen-

zellen) können dann in einem geeigneten Medium, welches Antibiotika oder Biozide zur Selektion transformierter Zellen enthalten kann, wieder ganze Pflanzen regeneriert werden.

- 5 Ist die eingeführte DNA einmal im Genom der Pflanzenzelle integriert, so ist sie dort in der Regel stabil und bleibt auch in den Nachkommen der ursprünglich transformierten Zelle erhalten. Sie enthält normalerweise einen Selektionsmarker, der den transformierten Pflanzenzellen Resistenz gegenüber einem Biozid oder einem Antibiotikum wie Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin, Methotrexat,
- 10 Glyphosat, Streptomycin, Sulfonylharnstoff, Gentamycin oder Phosphinotricin u.a. vermittelt. Der individuell gewählte Marker sollte daher die Selektion transformierter Zellen gegenüber Zellen, denen die eingeführte DNA fehlt, gestatten. Hierzu sind auch alternative Marker geeignet, wie nutritive Marker, Screeningmarker (wie GFP, green fluorescent protein). Selbstverständlich kann auch vollkommen auf Selektionsmarker verzichtet werden, was allerdings mit einem ziemlich hohen Screeningbedarf einhergeht. Falls markerfreie transgenen Pflanzen erwünscht sind, stehen dem
- 15 Fachmann auch Strategien zur Verfügung, die eine nachträgliche Entfernung des Markergens erlauben, z.B. Cotransformation, Sequenz-spezifische Rekombinasen.
- 20 Die Regeneration der transgenen Pflanzen aus transgenen Pflanzenzellen erfolgt nach üblichen Regenerationsmethoden unter Verwendung bekannter Nährmedien. Die so erhaltenen Pflanzen können dann mittels üblicher Verfahren, einschließlich molekularbiologischer Methoden, wie PCR, Blot-Analysen, auf Anwesenheit der eingeführten Nukleinsäure, die ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert,
- 25 untersucht werden.

Bei der transgenen Pflanze bzw. der transgenen Pflanzenzelle kann es sich um jede beliebige monokotyle oder dikotyle Pflanze bzw. Pflanzenzelle handeln.

Vorzugsweise handelt es sich um Nutzpflanzen bzw. Zellen von Nutzpflanzen. Besonders bevorzugt handelt es sich um transgene Pflanzen ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus der Tabakpflanze (*Nicotiana tabacum*) und der Kartoffelpflanze (*Solanum tuberosum*).

5

Die Expression des erfindungsgemäßen synthetischen Spinneseidenproteins in den erfindungsgemäßen Pflanzen bzw. in den erfindungsgemäßen Pflanzenzellen kann mit Hilfe herkömmlicher molekularbiologischer und biochemischer Methoden nachgewiesen und verfolgt werden. Dem Fachmann sind diese Techniken bekannt und er ist problemlos in der Lage, eine geeignete Nachweismethode zu wählen, beispielsweise eine Northern-Blot-Analyse oder eine Southern-Blot-Analyse.

10

Ein Beispiel für die Herstellung von transgenen Spinneseidenprotein-produzierenden Pflanzen ist in Abbildung 9 angegeben. Die durch PCR

15 amplifizierten Sequenzen können möglicherweise frameshift-Mutationen enthalten. Deshalb müssen die erfindungsgemäßen Sequenzen vor der Erzeugung transgener Pflanzen überprüft werden. Dies kann durch Sequenzanalyse jeweils von den flankierenden Vektorsequenzen aus erfolgen. Längere Konstrukte über 1 kB können auf diese Weise nicht geprüft werden, da aufgrund der repetitiven Eigenschaften der

20 erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen interne Sequenzierungsprimer keine auswertbaren sicheren Sequenzen liefern. Aus diesem Grund wurden amplifizierte Spidroinsequenzen vorzugsweise in den bakteriellen Expressionsvektor pet23a (Novagen, Madison, USA) kloniert. Durch immunchemischen Nachweis der Expression können dann frameshift-Mutationen ausgeschlossen werden.

25

Die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle bzw. Expressionskassetten werden erfindungsgemäß üblicherweise als HindIII-Fragmente in Shuttle-Vektoren wie pBIN, pCB301 und/oder pGSGLuc1 kloniert. Diese Shuttle-Vektoren werden

vorzugsweise in *Agrobacterium tumefaciens* transformiert. Die Transformation von *Agrobacterium tumefaciens* wird üblicherweise durch Southern-Blot-Analyse und/oder PCR-Screening überprüft.

- 5 Die Erfindung betrifft ebenfalls Vermehrungsmaterial und Ernteprodukte der erfindungsgemäßen Pflanzen, beispielsweise Früchte, Samen, Knollen, Wurzelstöcke, Sämlinge, Stecklinge usw.

Ferner betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Gewinnung von pflanzlichem
10 Spinnenseidenprotein, umfassend die folgenden Schritte:

- a) die Übertragung eines erfindungsgemäßen rekombinanten Nukleinsäuremoleküls oder Vektors, der eine DNA-Sequenz erhält, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert, auf Pflanzenzellen;
15
b) gegebenenfalls die Regeneration von Pflanzen aus den transformierten Pflanzenzellen;
c) die Verarbeitung der Pflanzenzellen aus a) bzw. der Pflanzen aus b) zur
20 Gewinnung von pflanzlichem Spinnenseidenprotein.

Bei einem weiteren wesentlichen Aspekt der vorliegenden Erfindung werden Verfahren zur Gewinnung von rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteinen bereitgestellt, die die Übertragung eines erfindungsgemäßen rekombinanten
25 Nukleinsäuremoleküls oder Vektors, der eine DNA-Sequenz enthält, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert, auf beliebige Zellen, d.h. neben Pflanzenzellen beispielsweise auch bakterielle oder tierische Zellen, umfassen. Wesentliches Merkmal bei diesen erfindungsgemäßen Verfahren ist dabei der Schritt

der Reinigung der rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteine, bei dem u.a. deren besondere Eigenschaften hinsichtlich der Löslichkeit bei Erwärmung und/oder Säurezugabe ausgenutzt werden.

- 5 So erfolgt bei einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens die Reinigung des rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteins durch Hitzebehandlung des Zellextrakts, z.B. eines Pflanzensamen-Extrakts, und anschließende Abtrennung der denaturierten zelleigenen, z.B. der pflanzeneigenen Proteine beispielsweise durch Zentrifugation. Dabei wird die Eigenschaft der
- 10 rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteine ausgenutzt, daß sie beim Erhitzen von wäßrigen Lösungen bis zum Siedepunkt löslich bleiben. Dagegen bleiben beispielsweise synthetische Faserproteine der Spinne und des Seidenspinners nach Expression in *Pichia pastoris* beim Erhitzen nur bis zu einer Temperatur von 63°C und dann nur für 10 Minuten in Lösung.
- 15 Bei einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Gewinnung von rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteinen erfolgt die Reinigung durch Einstellung eines sauren pH mittels Zugabe von Säure, vorzugsweise Salzsäure zu dem Zellextrakt, beispielsweise zu dem Pflanzenextrakt.
- 20 Der saure pH, insbesondere ein pH im Bereich von 1,0 bis 4,0, besonders bevorzugt im Bereich von 2,5 bis 3,5, am meisten bevorzugt ein pH von 3,0, wird dabei vorzugsweise für eine Dauer von mehreren Minuten, besonders bevorzugt etwa 30 Minuten, bei einer Temperatur unterhalb Raumtemperatur, vorzugsweise etwa 4°C, beibehalten. Wiederum wird eine nicht zu erwartende Eigenschaft der durch das
- 25 erfindungsgemäße Verfahren gewonnenen Proteine ausgenutzt, nämlich daß sie beim Ansäuern, insbesondere bis zu einem pH von 3,0 bei 4°C in Lösung bleiben. Die zelleigenen, beispielsweise pflanzeneigenen Proteine fallen dagegen aus und werden insbesondere durch Zentrifugation abgetrennt.

Die vorstehend beschriebenen Löslichkeitseigenschaften der nach dem erfindungsgemäßen Verfahren rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteine sind sehr überraschend und waren in dieser Form nicht vorhersehbar und ermöglichen

5 eine effiziente, schnelle und kostengünstige Reinigung bei deren Extraktion aus Zellen, insbesondere Pflanzenzellen.

Bei einer weiteren Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird ein Nukleinsäuremolekül auf die Zellen übertragen, das zusätzlich eine

10 Nukleinsäuresequenz umfaßt, die für ELP's kodiert. In diesem Fall erfolgt die Reinigung des rekombinant hergestellten Spinnenseidenproteins auf die folgende Weise: In einem ersten Schritt wird das Spinnenseiden-ELP-Fusionsprotein durch Hitzebehandlung des Rohextrakts angereichert. Überraschenderweise behalten die Fusionsproteine dabei die außerordentliche Löslichkeit der Spinnenseidenproteine

15 bei hohen Temperaturen bei. Ein Großteil der zelleigenen Proteine fällt bei dieser Temperaturerhöhung aus. Im nächsten Schritt werden die Spinnenseiden-ELP-Fusionsproteine durch weitere Temperaturerhöhung, vorzugsweise auf eine Temperatur von mindestens 60°C, ausgefällt. Vorzugsweise erfolgt die Ausfällung bei einer geeigneten Salz-Konzentration, beispielsweise einer NaCl-Konzentration

20 von mindestens 0,5 M, vorzugsweise im Bereich von 1 M bis 2 M. Schließlich wird das ELP-Fragment, vorzugsweise durch Verdauung mit CNBr, abgespalten.

Durch das vorstehend beschriebene erfindungsgemäße Verfahren zur Gewinnung von rekombinant hergestelltem Spinnenseidenprotein können die Proteine in

25 Pflanzen zu hohen Konzentrationen, vorzugsweise bis zu einer Expressionshöhe von etwa 4% des gesamten löslichen Proteins angereichert werden. Damit werden erstmals Verfahren bereitgestellt, die zur technisch realisierbaren Anreicherung von rekombinantem Spinnenseidenprotein verwendet werden können.

Die erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine können bei einem weiteren Aspekt der vorliegenden Erfindung zur Herstellung von synthetischen Fäden sowie von Folien und Membranen verwendet werden. Insbesondere sind derartige Produkte für
5 medizinische Anwendungen, insbesondere zum Vernähen von Wunden und/oder als Gerüste bzw. als Abdeckung für künstliche Organe, geeignet. Ferner können die aus den erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine hergestellten Folien und Membrane u.a. als Anheftungsflächen für kultivierte Zellen sowie zur Filterung verwendet werden.

10

Die vorliegende Erfindung wird in den nachfolgenden Beispielen, die der Veranschaulichung der Erfindung dienen und in keiner Weise als einschränkend zu verstehen sind, erläutert.

15

Beispiele

Beispiel 1: Expression und stabile Akkumulation von synthetischen Faserproteinen der Spinne und des Seidenspinners im endoplasmatischen Retikulum von Blättern
20 bzw. Knollen transgener Tabak- und Kartoffelpflanzen.

In den Abbildungen 10a und b sind Aminosäuresequenzen von synthetischen Spinnenseidenproteinen mit einer hohen Homologie zu dem Spidroin 1-Protein aus *Nephila clavipes* dargestellt, wobei der C-terminale und nicht repetitive konstante
25 Bereich nicht abgebildet sind. Diese synthetischen Spinnenseidenproteine bestehen aus Modulen, die wiederum aneinandergereihte Oligonukleotidsequenzen umfassen. Durch Kombination mehrerer Module wurden die verschiedenen synthetischen Gene

- 23 -

assembliert, wobei auch Mischformen mit Fibroin 1-nachempfundenen Sequenzen erzeugt wurden.

- In der nachfolgenden Tabelle 1 sind verschiedene Pflanzenexpressionskassetten
- 5 aufgelistet, die für verschiedene erfindungsgemäße synthetische Faserproteine mit den Sequenzen SEQ ID No. 30 bis 40 kodieren.

Tabelle 1

Pflanzenexpressions-Kassette	Anzahl der Aminosäuren (mit Leadersequenz)	Berechnetes Molekulargewicht (mit Leadersequenz)	Homologie
SB1 (SEQ ID No. 19)	Nr. 1 – 149 AS	11 kDa	Spidroin 1
SD1 (SEQ ID No. 21)	Nr. 2 – 182 AS	13 kDa	Spidroin 1
SA1 (SEQ ID No. 26)	Nr. 3 – 215 AS	16 kDa	Spidroin 1
SE1 (SEQ ID No. 20)	Nr. 4 – 275 AS	20 kDa	Spidroin 1
SF1 (SEQ ID No. 29)	Nr. 5 – 317 AS	24 kDa	Spidroin 1
SM12 (SEQ ID No. 28)	Nr. 6 – 410 AS	31 kDa	Spidroin 1
SO1 (SEQ ID No. 27)	Nr. 7 – 676 AS	52 kDa	Spidroin 1
SO1SM12 (SEQ ID No. 23)	Nr. 8 – 1035 AS	82 kDa	Spidroin 1
SO1SO1 (SEQ ID No. 22)	Nr. 9 – 1301 AS	102 kDa	Spidroin 1
SO1SO1SO1 (SEQ ID No. 24)	Nr. 10 – 1926 AS	151 kDa	Spidroin 1
FA2 (SEQ ID No. 25)	Nr. 11 – 264 AS	20 kDa	Spidroin 1 und Fibroin

- Durch eine N-terminale Signalpeptidsequenz und eine C-terminale
- 5 ER-Retentionssequenz (KDEL) wurde der zielgerichtete Transport und die Akkumulation der erfindungsgemäßen Sequenzen im endoplasmatischen Retikulum von Zellen transgener Pflanzen erreicht. Eine Nachweissequenz in Form eines c-myc-Tags am C-terminalen Ende der transgenen synthetischen Faserproteine erlaubt den Nachweis der transgenen Produkte in Pflanzenextrakten.

10

Die Kassetten SO1 und FA2 sind beispielhaft in den Abbildungen 10a und 10b im Detail dargestellt. Nach demselben Aufbauprinzip wurden die Pflanzenexpressionskassetten SB1, SD1, SA1, SE1, SF1, SM12, SO1SM12,

SO1SO1 und SO1SO1SO1 erstellt. Durch Variation der Grundmodulwiederholungen entstehen synthetische Faserproteine verschiedener Aminosäureanzahl und entsprechend unterschiedlichen Molekulargewichts (siehe Tabelle 1).

- 5 Die Abbildung 2 beschreibt schematisch den Weg zur Einstellung der oben genannten Konstrukte. Zur direkten Klonierung der erfindungsgemäßen synthetischen Faserproteingene wurden die Schnittstellen SmaI und NaeI eingeführt. Dazu wurde ein PCR-Produkt, welches die entsprechenden Schnittstellen enthielt, mit der Primerkombination 5'-pRTRA-SmaI und 3'-pRTRA-NotI in das Plasmid
- 10 pRTRA ScFv SmaIΔ/BamHIΔ über BamHI und NotI kloniert. Synthetische Faserproteingene wurden aus den Faserproteingenderivaten der Plasmide 9905 oder 9609 in den Vektor pRTRA.7/3-Platzhalter kloniert. Durch die Wahl der Restriktionsendonukleaseerkennungssequenzen am 5'- und 3'-Ende der synthetischen Faserproteingene (SmaI und NaeI) sind diese frei miteinander kombinierbar, und
- 15 größere Faserproteingene können erfindungsgemäß in einem Klonierungsschritt assembliert werden.

- Auf diese Weise wurden transgene synthetische Spinnenseidenproteine zu hohen Konzentrationen im endoplasmatischen Retikulum transgener Tabak- und
- 20 Kartoffelpflanzen akkumuliert (siehe Abbildungen 12a und 12b). In der folgenden Tabelle 2 ist die maximale Akkumulationshöhe von erfindungsgemäßen synthetischen Spinnenseidenproteinen im ER von Blättern transgener Tabak- und Kartoffelpflanzen dargestellt. Die Abschätzung der Anreicherung der transgenen synthetischen Faserproteine erfolgte über einen Vergleich mit transgenen
- 25 rekombinanten Antikörpern, die auf identische Weise mit dem gleichen Tag versehen wurden. Damit wird erstmals eine Akkumulation von Spinnenseidenproteinen in Pflanzen am Beispiel von Kartoffeln und Tabak beschrieben.

- 26 -

Tabelle 2

	Faserprotein			
	SD1	SM12	SO1	FA2
Tabak Akkumulationsmenge in Prozent Gesamtprotein	~ 0,5 %	~ 0,5 %	~ 0,5 %	~ 0,5 %
Kartoffel Akkumulationsmenge in Prozent Gesamtprotein	~ 0,5 %	~ 0,5 %	~ 0,5 %	~ 0,5 %

5 Eine definierte Menge des faserproteinhaltigen Gesamtproteinextrakts (40 µg) und eine definierte Menge eines Referenzproteins mit c-myc-Immunotag (50 ng ScFv) wurden mittels SDS-Gelelektrophorese aufgetrennt, und synthetische Faserproteine und Referenzproteine wurden im Western Blot durch einen Anti-c-myc-Antikörper nachgewiesen (siehe Abbildungen 12 und 13). Die prozentualen Angaben resultieren

10 aus dem Vergleich zwischen der Bandenintensität der Referenzproteine und der Bandenintensität der synthetischen erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine und stellen geschätzte Werte dar. Größenunterschiede der synthetischen Faserproteine und des Referenzproteins wurden berücksichtigt. Mögliche Unterschiede in der Markierungseffizienz können nahezu ausgeschlossen werden.

15

In Abbildung 13 ist die Hitzestabilität von verschiedenen erfindungsgemäßen synthetischen Spinnenseidenproteinen in pflanzlichen Extrakten dargestellt.

Überraschenderweise bleiben die erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine auch bei einer längeren Hitzebehandlung von 3 h in Lösung (Vergleich der

20 Referenzprobe R zu den Proben H-60 min, H-120 min und H-180 min). Die übrigen pflanzlichen Proteine werden zu mehr als 90 % denaturiert und können durch Zentrifugation einfach abgetrennt werden (Abbildung 13a: Vergleich der Probe R zu H-60 min). Diese ungewöhnlichen Eigenschaften der erfindungsgemäßen

synthetischen Spinnenseidenproteine, die unter anderem durch ihre Aminosäuresequenz und ihre Faltung im pflanzlichen ER bedingt sind, ermöglichen die Entwicklung von großtechnisch realisierbaren und kostengünstigen Reinigungsstrategien.

5

In Abbildung 14 wird die Löslichkeit von synthetischen Faserproteinen aus transgenen Pflanzen dargestellt. Im Gegensatz zu den im Stand der Technik beschriebenen bakteriell exprimierten synthetischen Faserproteinen weisen die erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteine eine überraschend gute Löslichkeit in wäßrigen Puffern auf (R1, R2 = Tris-Puffer; T1, T2 = Phosphatpuffer). Auch diese Eigenschaften beruhen unter anderem auf der Aminosäuresequenz und insbesondere auf der Faltung im endoplasmatischen Retikulum pflanzlicher Zellen.

15 Beispiel 2: Expression und stabile Akkumulation von synthetischen Spinnenseidenproteinen im Plasmalemma von Blättern transgener Tabak- und Kartoffelpflanzen.

In diesem Beispiel wird die membranassoziierte Akkumulation von erfindungsgemäßen Spinnenseidenproteinen in transgenen Tabak- und Kartoffelpflanzen beschrieben. Dabei wurden ausgehend von den in Beispiel 1 beschriebenen Konstrukten Fusionsgene hergestellt, die für ein Spinnenseidenprotein und für eine Membrandomäne kodieren. Das allgemeine Schema dieser Konstruktionen ist in Abbildung 15 dargestellt. Dabei wurde aus dem Plasmid pRT-HOOK ein NotI-Fragment isoliert, welches sowohl für die HOOK-Domäne als auch für einen c-myc-Immunotag kodiert, welches dann in Spinnenseidenproteingen-tragende Derivate des Vektors pRTA.7/3 kloniert wurde. Durch die Wahl der Restriktionsendonukleaseerkennungssequenzen am 5'- und 3'-Ende der synthetischen Spinnenseidenproteingene (SmaI und NaeI) sind diese

- 28 -

wiederum miteinander kombinierbar, wodurch größere Faserproteingene in einem Klonierungsschritt assimiliert werden können.

- Abbildung 16 zeigt die Expression der vorstehend beschriebenen Gene in transgenen
- 5 Tabak- und Kartoffelpflanzen. Wie aus dem Vergleich der Proben 1, 2 und 3 in dieser Abbildung ersichtlich ist, sind diese transgenen Spinnenseidenproteine im Gegensatz zu den im Beispiel 1 beschriebenen erfindungsgemäßen Proteinen in der wäßrigen Phase nicht löslich. Auch diese Eigenschaft kann für die Entwicklung von Reinigungsstrategien ausgenutzt werden.

10

Beispiel 3: Gezielte Veränderung der Löslichkeit von Spinnenseidenproteinen durch Fusion mit elastin-like peptides.

- 15 In einem ersten Schritt wurde gezeigt, daß Fusionen mit elastin-like peptides auch bei bakteriell exprimierten Spinnenseidenproteinen zu einer gezielten Veränderung des Löslichkeitsverhaltens in Abhängigkeit von Temperatur und Konzentration führen.
- 20 Eine entsprechende Expressionskassette ist in Abbildung 5 dargestellt. Beispiele für ELP mit 10, 20, 30, 40, 60, 70 und 100 Pentamereinheiten sind in den Sequenzen SEQ ID No. 41 bis 47 angegeben. Beispiele für DNA-Sequenzen und Aminosäuresequenzen in Form des Konstrukts SM12-70xELP als Pflanzenexpressionskassette bzw. als Expressionskassette für *E. coli* sind in den
- 25 Sequenzen SEQ ID No. 48-51 bzw. in den Abbildungen 19 bis 22 angegeben.

In Abbildung 17 wird die gelelektrophoretische Analyse eines solchen Reinigungsverfahrens dargestellt. Durch Hitzebehandlung des Rohextrakts wurde das Spinnenseiden-ELP-Fusionsprotein angereichert. Überraschenderweise

- 29 -

behielten die Fusionsproteine die außerordentliche Löslichkeit der Spinnenseidenproteine bei hohen Temperaturen bei. Ein Großteil der *E. coli*-Proteine wurde bei diesen Temperaturen ausgefällt.

- 5 Nach starker Konzentration des angereicherten Spinnenseidenproteinextrakts wurde das Extrakt einer Temperatur von 60°C ausgesetzt, woraufhin das ELP-Spinnenseidenprotein ausfiel und pelletiert wurde. Das Pellet wurde bei Raumtemperatur in Wasser gelöst, und unlösliche Bestandteile wurden durch Pelletieren entfernt.
- 10 Anschließend wurde die Spinnenseidenproteinfraktion lyophilisiert und durch Cyanbromidspaltung verdaut. Die Cyanbromidspaltung wurde durch den Methionin-Rest zwischen dem Spinnenseidenprotein und dem ELP-Peptid ermöglicht.
- 15 Anschließend wurde erneut lyophilisiert und in wäßrigem Puffer gelöst. Dann erfolgte eine starke Konzentration, wobei das abgespaltene ELP-Fragment (ELP(T-R); siehe Abbildung 2) ausfiel und durch Pelletieren entfernt wurde. Das Spinnenseidenprotein blieb dabei in Lösung (SM12(T-R); siehe Abbildung 17). Die Löslichkeit blieb für einen längeren Zeitraum erhalten, bei SM12 bei 4°C für 24 H.
- 20 Die Identität des auf diese Weise gereinigten Spinnenseidenproteins wurde durch Peptidsequenzierung des N-terminalen Endes gezeigt.

- In einem zweiten Schritt wurden Spinnenseidenproteine als ELP-Fusionen im endoplasmatischen Retikulum von transgenen Tabakpflanzen akkumuliert. Der
- 25 prinzipielle Aufbau dieser Expressionskassetten ist ebenfalls in Abbildung 5 dargestellt. Diese Fusionsproteine mit Molekulargewichten von 35.000 Dalton bis 100.000 Dalton wurden sämtlich in Pflanzen zu hohen Konzentrationen mit einer Expressionshöhe von etwa 4 % des gesamt löslichen Proteins angereichert.

Allgemeine molekularbiologische Verfahren

- 5 - Klonierungen: Restriktionsspaltungen wurden in 100 µl Endvolumen vorgenommen. Standardmäßig wurde 10 µg Plasmid-DNA, 10 u je Restriktionsendonuklease, 10 µl eines geeigneten Puffers (10x) eingesetzt. DNA-Fragmente wurden durch Gelelektrophorese voneinander getrennt und gegebenenfalls per DNA-Gelextraktion gereinigt. Für Ligationen wurde das zu klonierende DNA-Fragment (Insert) in dreifachem molaren Überschuß zum
10 Vektorfragment eingesetzt. Sticky-end Ligationen wurden in einer Stunde und blunt-end Ligationen in 12 h bei 4°C mit 1 u Ligase durchgeführt. DNA wurde sowohl in Zellen von *E. coli* als auch von *A. tumefaciens* durch Elektroporation eingebracht. Transformanten wurden auf geeigneten Nährböden mit Antibiotikazusatz (Ampicillin oder Kanamycin) selektiert.
15
- PCR: PCR Reaktionen wurden in 50 µl Endvolumen vorgenommen. Standardmäßig wurde 100 ng Template-DNA, 100 pmol eines jeden Primer, 1 µl dNTP's (10 mM) und 5 µl eines geeigneten Puffers, und 1 u Tfl- oder Taq-DNA-Polymerase eingesetzt. Folgende Bedingungen wurden für eine PCR-Reaktion
20 gewählt: 2 min 95°C, dann 30 Zyklen á 45 sec 95°C, 45 sec 50°C oder 55°C, 1 min 72°C, gefolgt von 5 min 72°C.
- Expression und Akkumulation in Tabak- und Kartoffelpflanzen: Transgene Pflanzen wurden im Brutraum bei gleichmäßiger Beleuchtung und ca. 20°C
25 auf geeigneten Nährmedien mit Antibiotikazusatz (Kanamycin, Rifampicin und Carbenicillin) selektiert. Nach Bewurzelung wurden sie im Gewächshaus in erdehaltigen Töpfen weiter wachsen gelassen.

- 31 -

- Im übrigen können die im Rahmen dieser Erfindung eingesetzten molekularbiologischen und biochemischen Techniken in gängigen Laborhandbüchern nachgeschlagen werden, wie z.B. in Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2. Auflage, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, New York.

Abbildungen

- 10 Abbildung 1:
Oligonukleotid-Sequenzen, die für Spidroin-typische kurze Aminosäurerepeats kodieren.
- Abbildung 2:
- 15 Aneinanderreihung von Oligonukleotid-Sequenzen zum Aufbau von Modulen der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen.

- Abbildung 3:
- 20 Aufbau der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen aus Modulen.

- Abbildung 4:
- Klonierung des Gens der Transmembrandomäne von HOOK mit *NotI* aus (pRT-HOOK) in (pRTA.73 syn.spidroin).

- 25
- Abbildung 5:
- Schematische Darstellung der Spidroin-ELP-Expressionskassetten. xELP-Einheiten: 10, 20, 30, 40, 60, 70 oder 100 Pentamere (Val-Pro-Gly-Val-Gly). Das Methionin

zwischen dem Spinnenseidenprotein und dem ELP-Peptid ermöglicht die Cyanbromidspaltung.

Abbildung 6:

- 5 Veränderung einer Base in der Erkennungssequenz von *Bam*HI (Position 1332) durch gezielte Mutagenese.

Abbildung 7:

- Vorbereiten von (pRTRA.73, *Bam*HI Δ) auf die direkte Klonierung der synthetischen Spidroingene aus p9905 oder p9609 – Aufheben der *Sma*I-Erkennungssequenz (Position 463).
- 10

Abbildung 8:

- Einführung der Restriktionserkennungssequenzen von *Sma*I und *Nae*I in den Vektor (pRTRA.73, *Bam*HI Δ +*Sma*I Δ) für die Klonierung synthetischer Spidroingene.
- 15

Abbildung 9:

Allgemeine Darstellung der Herstellung transgener Spinnseidenprotein-produzierender Pflanzen.

20

Abbildung 10:

- (a) Darstellung des modulhaften Aufbaus der erfindungsgemäßen Spinnseidenproteine am Beispiel der SO1-Sequenz. Aminosäuren 1 – 28: LeB4-Signalpeptid; Aminosäuren 29 – 659: synthetische Spinnseidenproteinsequenz; Aminosäuren 660 – 672: c-myc-Tag; Aminosäuren 673 – 676 ER-Retentionssignal.
- 25

Anordnung der Sequenzmodule nach der in Simmons et al., 1996. *Molecular orientation and two-component nature of the cristalline fraction of spider dragline silk*. Science 271: 84 – 87 angegebenen Originalsequenz.

- 5 (b) Darstellung des modulhaften Aufbaus des synthetischen Faserhybridproteins FA2. Aminosäuren 1 – 28: LeB4-Signalpeptid; Aminosäuren 28 – 130: synthetische Faserproteinsequenz der Spinne; Aminosäuren 131 – 247: synthetische Faserproteinsequenz des Seidenspinners; Aminosäuren 248 – 260: c-myc-Tag; Aminosäuren 261 – 264: ER-Retentionssignal.

10

Abbildung 11:

Schematische Darstellung der Erstellung von Genkassetten für die Akkumulation von synthetischen Faserproteinen der Spinne und des Seidenspinners im ER von transgenen Pflanzen.

15

Abbildung 12:

- (a) Expression der synthetischen Faserproteine der Spinne (SD1, SM12, SO1) bzw. des Hybrids aus Spinne und Seidenspinner (FA2) in Blättern von transgenen Tabakpflanzen. Analysiert wurden jeweils 40 µg Gesamtprotein in SDS-Probenpuffer. SD1: 13kDa; FA2: 20 kDa; SM12: 31 kDa; SO1: 52 kDa; K: Positivkontrolle 50 ng ScFv.
- 20

(b) Expression der synthetischen Faserproteine der Spinne (SD1, SM12, SO1) bzw. des Hybrids aus Spinne und Seidenspinner (FA2) in transgenen Kartoffelpflanzen.

25

Analysiert wurden ebenfalls jeweils 40 µg Gesamtprotein in SDS-Probenpuffer. SD1: 13 kDa; FA2: 20 kDa; SM12: 31 kDa; SO1: 52 kDa; K: Positivkontrolle 50 ng ScFv.

Abbildung 13:

Darstellung der Hitzebeständigkeit der synthetischen Faserproteine der Spinne und des Seidenspinners anhand der Konstrukte SD1 und FA2. A: Coomassie-gefärbtes

- 5 Gel. B: Immunochemischer Nachweis der synthetischen Faserproteine SD1 und FA2 mittels Anti-c-myc-Antikörper. PM: Proteinmarker; ScFv: 50 ng ScFv; R: wäßriges Pflanzenextrakt von Blättern von transgenen Pflanzen für SD1 und FA2; H: Hitzeschritt 60 min, 120 min, 180 min, 24 H und 48 H bei 90°C.

- 10 Bei der Hitzebehandlung ausgefallene Pflanzenextraktbestandteile wurden durch Zentrifugieren abgetrennt.

Abbildung 14:

Untersuchung der Lösungseigenschaften und Stabilität des synthetischen

- 15 Spinnenseidenproteins SO1 nach Ammoniumsulfatfällung.

10 g Blattmaterial wurden in Stickstoff schockgefroren, zermörsert, in 20 ml Rohextrakt-puffer aufgenommen, für 30 min bei 38°C geschüttelt, und unlösliche Bestandteile wurden durch Zentrifugieren entfernt (30 min, 10.000 rpm).

- 20 Anschließend wurde der Überstand (R) für 10 min auf 90°C erhitzt und das Präzipitat durch Zentrifugieren entfernt (30 min, 10.000 rpm). Der Überstand (H) wurde mit 20 % Ammoniumsulfat versetzt, 4 h bei Raumtemperatur gerollt und das Präzipitat durch Zentrifugieren für 60 min bei 4000 rpm und 4°C entfernt. Der Überstand wurde auf 30 % Endkonzentration Ammoniumsulfat eingestellt und über
- 25 Nacht bei Raumtemperatur gerollt. Die Lösung wurde in 5 Aliquote getrennt und das Präzipitat durch Zentrifugieren entfernt (60 min, 4000 rpm, 4°C). Die Überstände wurden verworfen und die verbliebenen Pellets in folgenden Lösungen aufgenommen: R1: Rohextrakt-puffer (50 mM Tris/HCl pH 8,0; 100 mM NaCl,

- 35 -

10 mM MgSO₄); S: SDS-Probenpuffer; G: 0,1 M Phosphatpuffer, 0,01 M Tris/HCl, 6 M Guanidiniumhydrochlorid/HCl pH 6,5; T: 1 x PBS, 1 % TritonX-100; L: LiBr.

Die Ansätze wurden für 1 h bei 37°C geschüttelt, und durch Zentrifugieren wurden
5 unlösliche Bestandteile entfernt (30 min, 10.000 rpm). Anschließend wurde ein Aliquot jedes Ansatzes entnommen und für die SDS-Gelelektrophorese vorbereitet (R1, S1, G1, T1, L1). Die Ansätze wurden nun 36 h bei Raumtemperatur stehen gelassen. Durch Zentrifugieren wurden unlösliche Bestandteile entfernt (30 min, 10.000 rpm). Wiederum wurde ein Aliquot jedes Ansatzes entnommen und für die
10 SDS-Gelelektrophorese vorbereitet (R2, S2, G2, T2, L2). Es wurden jeweils vergleichbare Volumina analysiert.

Abbildung 15:

Schematische Darstellung der Konstruktion von Genkassetten für die Akkumulation
15 von Plasmalemma-ständigen synthetischen Faserproteinen der Spinne und des Seidenspinners in transgenen Pflanzen.

Abbildung 16:

Expression der Faserfusionsproteine SM12-HOOK, SO1-HOOK und FA2-HOOK in
20 Blättern von transgenen Kartoffelpflanzen.

Abbildung 17:

Gelelektrophoretische Analyse der Anreicherung von bakteriell exprimierten Spinnenseidenproteinen nach Fusion mit ELP's. Spinnenseidenprotein:
25 30.000 Dalton.

Abbildung 18:

Western Blot-Analyse der Expression von Spinnenseiden-ELP-Fusionsproteinen in transgenen Tabakpflanzen. Jeweils 2,5 µg Gesamtpflanzenprotein wurden getrennt und die Spinnenseidenproteine auf dem Western Blot durch ECL nachgewiesen. Durch Vergleich mit dem Standard wird die Spinnenseidenproteinkonzentration auf
5 mindestens 4 % des gesamtlöslichen Proteins geschätzt.

Abbildung 19:

DNA-Sequenz von SM12-70xELP als Pflanzenexpressionskassette.

10

Abbildung 20:

Proteinsequenz von SM12-70xELP aus pflanzlicher Expression (SM12, c-myc-Tag, 70xELP, KDEL – jeweils durch Absatz gekennzeichnet),

15 · Abbildung 21:

DNA-Sequenz von SM12-70xELP als Expressionskassette für *E. coli*.

Abbildung 22:

Proteinsequenz von SM12-70xELP aus bakterieller Expression (SM12, c-myc-Tag, 20 70xELP, c-myc-Tag, HisTag – jeweils durch Absatz gekennzeichnet).

PATENTANSPRÜCHE

1. DNA-Sequenz, die für ein synthetisches Spinnenseidenprotein kodiert
5 und aus Modulen aufgebaut ist, die eine Gruppe von aneinandergereihten
Oligonukleotidsequenzen umfassen, wobei die Oligonukleotidsequenzen jeweils für
repetitive Einheiten aus Spidroin-Proteinen kodieren und die Module in freier Weise
angeordnet sind, wobei die freie Anordnung ermöglicht, daß das synthetische
Spinnenseidenprotein ein im Vergleich zu nativem Spinnenseidenprotein verändertes
10 Eigenschaftsspektrum aufweist.

2. DNA-Sequenz nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß die Oligonukleotidsequenzen ausgewählt sind aus der
Gruppe, bestehend aus:
15 a) TATGAGCGCTCCCGGGCAGGGT;
b) AGCTTTTAGGTACCAATATTAATCTGGCCGGCTCCACC;
c) TATGGTCTGGGG;
d) GGCCAGGGTGCTGGCCAA;
e) GGTGCAGGAGCWGCWGCWGCWGCTGCAGGTGGA;
20 f) GCCGGCCAGATTAATATTGGTACCTAAA;
g) CTGCCCCGGGAGCGCTCA;
h) ACCACCATAACCTCC;
i) AGCACCCCTGGCCCCCAG;
j) TGCAGCWGCWGCWGCWGCTCCTGCACCTTGGCC;
25 k) TATGAGATCTGGCCAAGGAGGT;
l) TTGGCCAGATCTCA;
m) AGTCAGGGTGCTGGTCGTGGAGGCCAA;
n) TCCACGACCAGCACCTGACTCCCCAG;

- 38 -

o) AGTCAGGGCGCTGGTCGTGGGGGACTGGGTGGCCAA;

p) ACCCAGTCCCCACGACCAGCGCCCTGACTCCCCAG;

q) CTGGGAGGGCAGGGAGCGGGCCAA;

r) CGCTCCCTGCCCTCCCAGACCTCC; und

- 5 s) Sequenzen, die zu den Sequenzen a) bis r) eine mindestens 80%ige, vorzugsweise mindestens 90%ige, besonders bevorzugt mindestens 94%ige, 96%ige, 98%ige Sequenzidentität aufweisen.

3. DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder 2,
10 **dadurch gekennzeichnet**, daß die Module mindestens 4 Oligonukleotidsequenzen umfassen.

4. DNA-Sequenz nach einem der vorangehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß sie aus mindestens 4 Modulen aufgebaut ist.

- 15 5. DNA-Sequenz nach einem der vorangehenden Ansprüche,
dadurch gekennzeichnet, daß sie zusätzlich Nukleinsäuresequenzen umfaßt, die für repetitive Einheiten aus Fibroin-Proteinen, vorzugsweise aus dem Fibroin-Protein des Seidenspinners kodieren.

- 20 6. DNA-Sequenz nach einem der vorangehenden Ansprüche, umfassend eine der in SEQ ID No. 19 – 29 angegebenen Sequenzen.

7. Rekombinantes Nukleinsäuremolekül, umfassend eine DNA-Sequenz
25 nach einem der vorangehenden Ansprüche sowie einen ubiquitär wirkenden Promotor, vorzugsweise den CaMV 35S-Promotor.

- 39 -

8. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 7, zusätzlich umfassend mindestens eine Nukleinsäuresequenz, die für ein pflanzliches Signalpeptid kodiert.

9. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8,
5 **dadurch gekennzeichnet**, daß das pflanzliche Signalpeptid den Transport in das endoplasmatische Retikulum (ER) gewährleistet.

10. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 8 oder 9,
dadurch gekennzeichnet, daß die für das pflanzliche Signalpeptid kodierende
10 Nukleinsäuresequenz eine LeB4Sp-Sequenz ist.

11. Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 10, zusätzlich umfassend eine Nukleinsäuresequenz, die für ein ER-Retentionspeptid kodiert.

15 12. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet, daß das ER-Retentionspeptid die Sequenz KDEL umfaßt.

13. Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 10, zusätzlich umfassend eine Nukleinsäuresequenz, die für eine Transmembrandomäne kodiert.
20

14. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 13,
dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuresequenz für die Transmembrandomäne des PDGF-Rezeptors kodiert.

25 15. Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 14, zusätzlich umfassend eine Nukleinsäuresequenz, die für ELP's kodiert.

16. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet, daß die ELP's von 10 bis 100 Pentamer-Einheiten umfassen.

17. Nukleinsäuremolekül nach Anspruch 15 oder 16, umfassend eine der in
5 SEQ ID No. 48 und 50 angegebenen Sequenzen.

18. Vektor, umfassend ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül nach einem der Ansprüche 7 bis 17.

10 19. Mikroorganismus, enthaltend ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül oder einen Vektor nach einem der Ansprüche 7 bis 18.

20. Rekombinantes Spinnenseidenprotein, kodiert durch eine DNA-Sequenz nach einem der Ansprüche 1 bis 6.

15

21. Spinnenseidenprotein nach Anspruch 20,
dadurch gekennzeichnet, daß es ein Molekulargewicht im Bereich von 10 bis 160 kDa aufweist.

20 22. Rekombinantes Spinnenseidenprotein, umfassend eine der in SEQ ID No. 30 bis 40 angegebenen Aminosäuresequenzen.

23. Verfahren zur Herstellung von Spinnenseidenprotein-produzierenden Pflanzen bzw. Pflanzenzellen, umfassend die folgenden Schritte:

- 25 a) Herstellung eines rekombinanten Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 7 bis 17;
b) Übertragung des Nukleinsäuremoleküls aus a) auf pflanzliche Zellen; und
c) ggf. die Regeneration fertiler Pflanzen aus den transformierten Pflanzenzellen.

24. Transgene Pflanzenzellen, enthaltend ein rekombinantes Nukleinsäuremolekül oder einen Vektor nach einem der Ansprüche 7 bis 18, oder hergestellt nach einem Verfahren nach Anspruch 23.

5

25. Transgene Pflanzen, enthaltend eine Pflanzenzelle nach Anspruch 24 oder hergestellt nach Anspruch 23, sowie Teile dieser Pflanzen, transgene Ernteprodukte und transgenes Vermehrungsmaterial dieser Pflanzen, wie Protoplasten, Pflanzenzellen, Kalli, Samen, Knollen, Stecklinge, sowie die
10 transgenen Nachkommen dieser Pflanzen.

26. Transgene Pflanzen nach Anspruch 25, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus Tabakpflanze und Kartoffelpflanze.

15 27. Verfahren zur Gewinnung von pflanzlichem Spinnenseidenprotein, umfassend die folgenden Schritte:
a) die Übertragung eines rekombinanten Nukleinsäuremoleküls oder Vektors nach einem der Ansprüche 7 bis 18 auf Pflanzenzellen;
b) gegebenenfalls die Regeneration von Pflanzen aus den transformierten
20 Pflanzenzellen; und
c) die Verarbeitung der Pflanzenzellen aus a) bzw. der Pflanzen aus b) zur Gewinnung von pflanzlichem Spinnenseidenprotein.

28. Verfahren zur Gewinnung von rekombinant hergestelltem
25 Spinnenseidenprotein, umfassend die folgenden Schritte:
a) die Übertragung eines rekombinanten Nukleinsäuremoleküls oder Vektors nach einem der Ansprüche 7 bis 18 auf Zellen;

- 42 -

b) die Reinigung des Spinnenseidenproteins durch Hitzebehandlung des Zellextrakts und anschließende Abtrennung der denaturierten zelleigenen Proteine.

29. Verfahren zur Gewinnung von rekombinant hergestelltem
- 5 Spinnenseidenprotein, umfassend die folgenden Schritte:
- a) die Übertragung eines rekombinanten Nukleinsäuremoleküls oder Vektors nach einem der Ansprüche 7 bis 18 auf Zellen;
- b) die Reinigung des Spinnenseidenproteins durch Einstellung eines sauren pH, vorzugsweise eines pH im Bereich von 2,5 bis 3,5 mittels Zugabe von Säure;
- 10 vorzugsweise Salzsäure zu dem Zellextrakt und anschließende Abtrennung der denaturierten zelleigenen Proteine.

30. Verfahren zur Gewinnung von rekombinant hergestelltem Spinnenseidenprotein, umfassend die folgenden Schritte:
- 15 a) die Übertragung eines rekombinanten Nukleinsäuremoleküls nach einem der Ansprüche 15 bis 17 auf Zellen;
- b) die Reinigung des Spinnenseidenproteins auf folgende Weise:
- Anreicherung des Spinnenseiden-ELP-Fusionsproteins durch Hitzebehandlung des Zellextrakts;
- 20 - Ausfällung des Spinnenseiden-ELP-Fusionsproteins durch weitere Temperaturerhöhung, vorzugsweise auf eine Temperatur von mindestens 60°C, und vorzugsweise bei einer Salzkonzentration von 1 M bis 2 M; und
- Abspaltung des ELP-Fragments, vorzugsweise durch Verdauung mit CNBr.

- 25 31. Verfahren nach einem der Ansprüche 28 bis 30, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellen ausgewählt werden aus Pflanzenzellen, tierischen Zellen und bakteriellen Zellen.

- 43 -

32. Pflanzliches Spinnenseidenprotein, hergestellt nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 27 bis 31.

33. Spinnenseidenprotein nach Anspruch 32,
5 **dadurch gekennzeichnet**, daß es ein Molekulargewicht im Bereich von 10 bis 160 kDa aufweist.

34. Verwendung der Spinnenseidenproteine nach einem der Ansprüche 20 bis 22 bzw. nach Anspruch 32 oder 33 zur Herstellung von synthetische Fäden,
10 Folien und/oder Membranen.

35. Verwendung nach Anspruch 34, wobei die Fäden, Folien und/oder Membrane für medizinische Anwendungen, insbesondere zum Vernähen von Wunden und/oder als Gerüste bzw. als Abdeckung für künstliche Organe, eingesetzt
15 werden.

36. Verwendung nach Anspruch 35, wobei die Folien und/oder Membrane als Anheftungsflächen für kultivierte Zellen und/oder zur Filterung verwendet werden.
20

37. DNA-Sequenz nach einem der Ansprüche 1 bis 6 oder Spinnenseidenprotein nach einem der Ansprüche 20 bis 21 und 32 oder 33, wobei das Eigenschaftsspektrum bzgl. mindestens einer Eigenschaft, ausgewählt aus Reißfestigkeit, Elastizität, Quellungsvermögen, Löslichkeitsverhalten,
25 Säurestabilität, Hitzebeständigkeit gegenüber nativem Spinnenseidenprotein verändert ist.

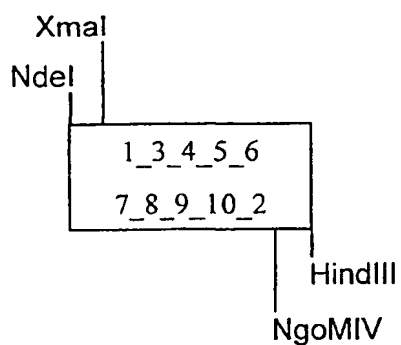
Nr. des Oligos	Sequenz in 5' to 3' Richtung
1	TATGAGCGCTCCCGGGCAGGGT
2	AGCTTTTAGGTACCAATATTAATCTGGCCGGGCTCCACC
3	TATGGTCTGGGG
4	GGCCAGGGTGCTGGCCAA
5	GGTGCAGGAGCGWGCWGCWGCWGCWCTGCAGGTGGA
6	GCCGGCCAGATTAATATTGGTACCTAAA
7	CTGCCCCGGGAGCGCTCA
8	ACCACCATAACCTCC
9	AGCACCCCTGGCCCCCAG
10	TGCAGCGWGCWGCWGCWGCWCTCCTGCACCTTGGCC
11	TATGAGATCTGGCCAAGGAGGT
12	TTGGCCAGATCTCA
13	AGTCAGGGTGCTGGTTCGTGGAGGCCAA
14	TCCACGACCAGCACCCCTGACTCCCCAG
15	AGTCAGGGCGCTGGTTCGTGGGGGAGCTGGGTGGCCAA
16	ACCCAGTCCCCACGACCAGCGCCCTGACTCCCCAG
17	CTGGGAGGGCAGGGAGCGGGCCAA
18	CGCTCCCTGCCCTCCCAGACCTCC

Abb. 1

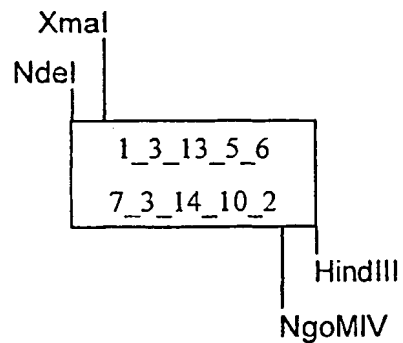
Protein	Anordnung der Genkassetten aus Abbildung 2
SD1	G_D_B_C
SM12	G_D_C_B_C_B_B_G_D_B_C
SO1	H_B_C_B_C_G_D_C_G_D_C_B_C_B_B_G_D_B_C
SO1SO1	H_B_C_B_C_G_D_C_G_D_C_B_C_B_B_G_D_B_C
	H_B_C_B_C_G_D_C_G_D_C_B_C_B_B_G_D_B_C
FA1	G_D_C_B_C_B_B_Fibroin

Abb. 3

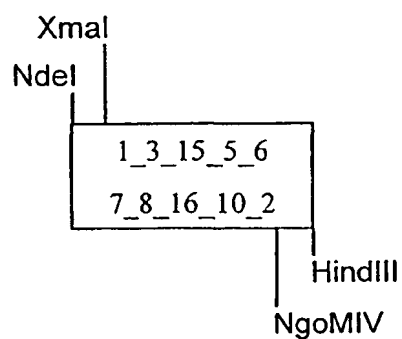
Abbildung 2



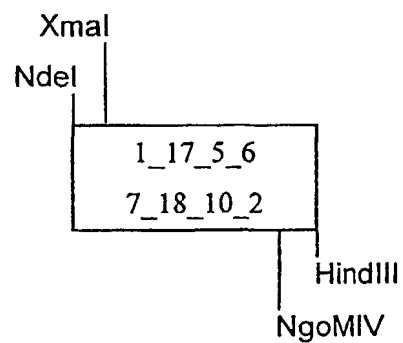
A



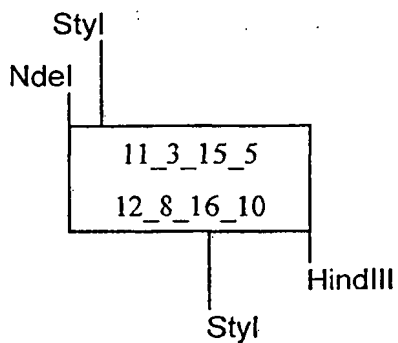
B



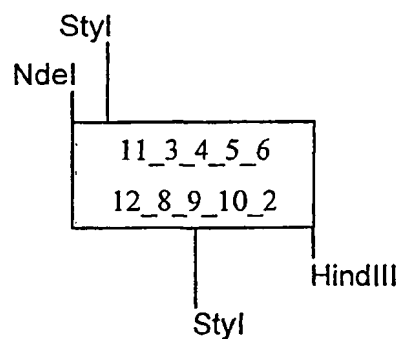
C



D



E

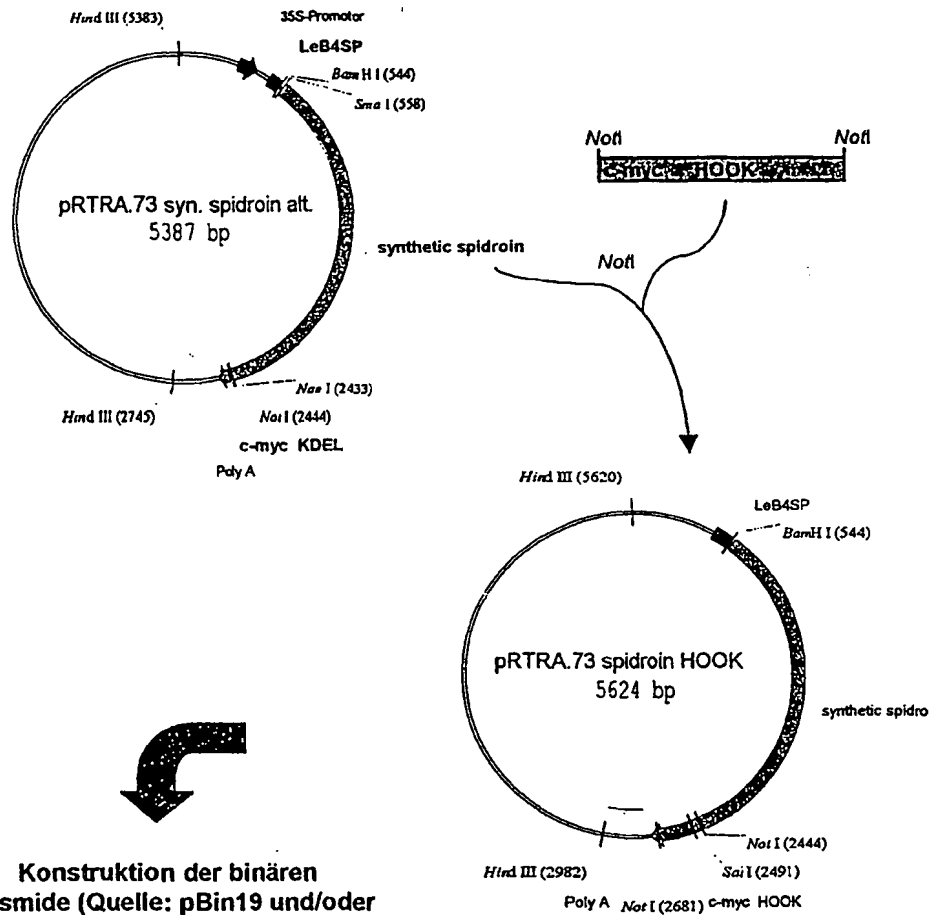


F

G=A+E

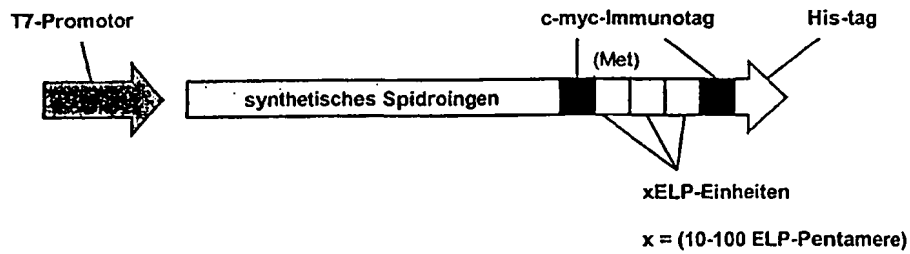
H=A+F

Abb. 4

6. Klonierung des Gens der Transmembrandomäne von HOOK mit *NotI* aus (pRT-HOOK) in (pRTA.73 syn. spidroin)

**Konstruktion der binären
Plasmide (Quelle: pBin19 und/oder
pGSGluc1) mit Spidroin-HOOK
Expressionskassetten durch
Transfer von *Hind* III-Fragmenten**

Spidroin-ELP-Expressionskassetten für *Escherichia coli*



Spidroin-ELP-Expressionskassetten für transgene Pflanzen

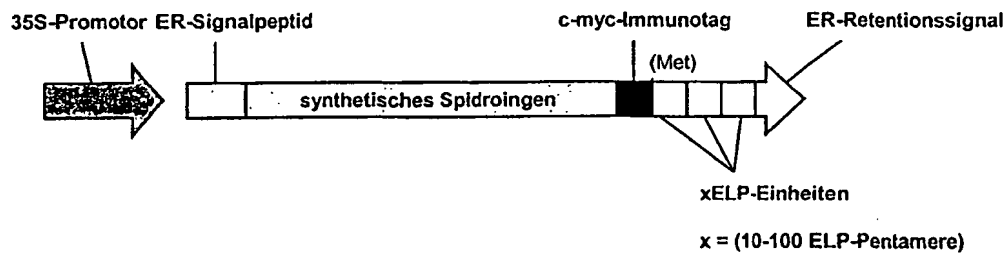
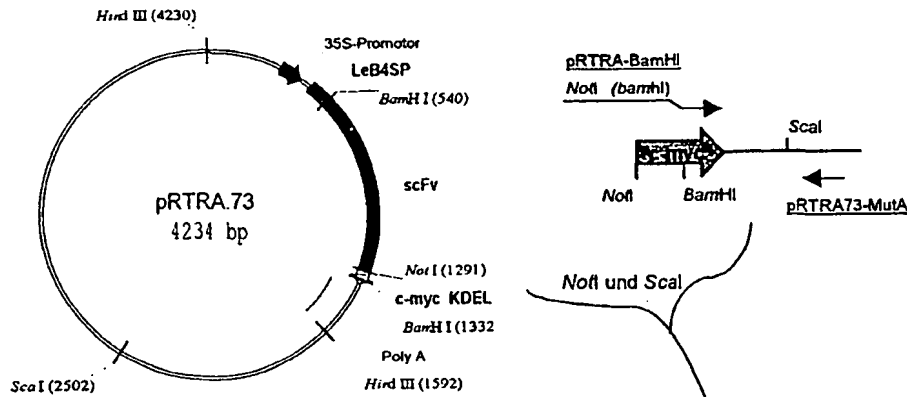


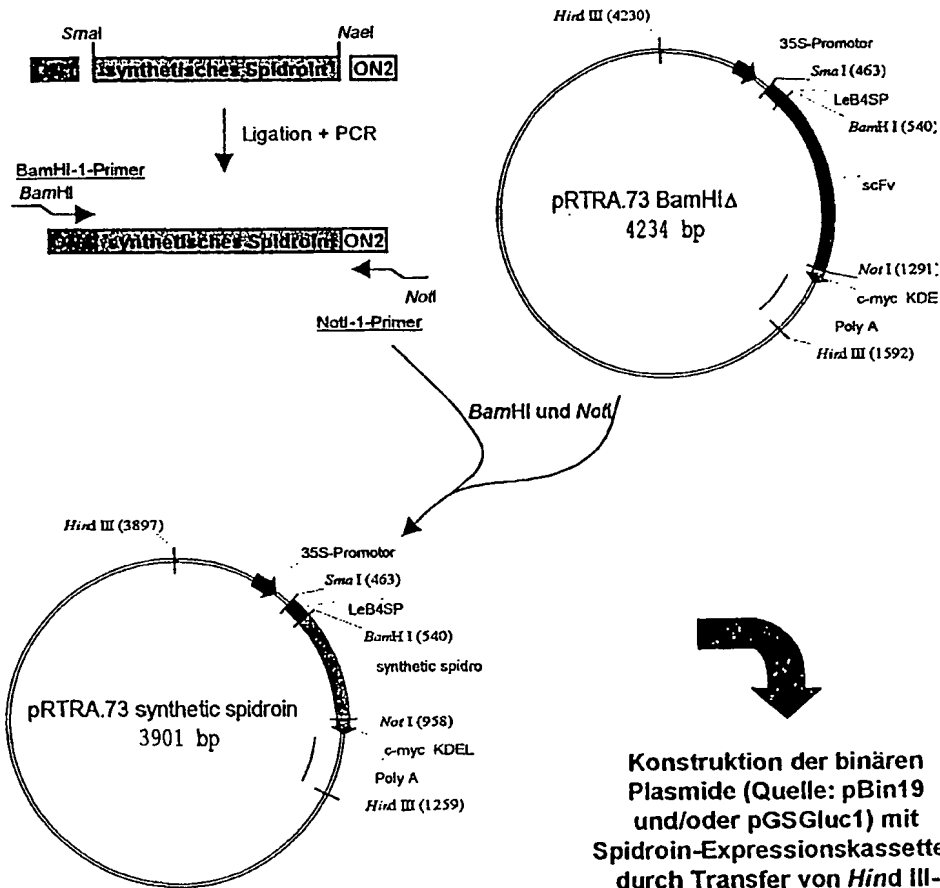
Abb. 5

Abb. 6

1. Veränderung einer Base in der Erkennungssequenz von *Bam*HI (Pos. 1332) durch gezielte Mutagenese



2. Klonierung synthetischer Spidroingene als PCR-Produkt über *Bam*HI und *Sma*I-Erkennungssequenzen (Matrize: synthetische Spidroingene aus p9609 oder p9905 nach Ligierung von Oligonukleotiden [ON1 + ON2] als Primerbindungsstellen) in den Vektor (pRTRA.73 *Bam*HIΔ)



Konstruktion der binären Plasmide (Quelle: pBin19 und/oder pGSGluc1) mit Spidroin-Expressionskassetten durch Transfer von *Hind* III-Fragmenten

Abb. 7

3. Vorbereiten von (pRTRA.73 BamHI Δ) auf die direkte Klonierung der synthetischen Spidroingene aus p9905 oder p9609 - Aufheben der SmaI-Erkennungssequenz (Pos. 463)

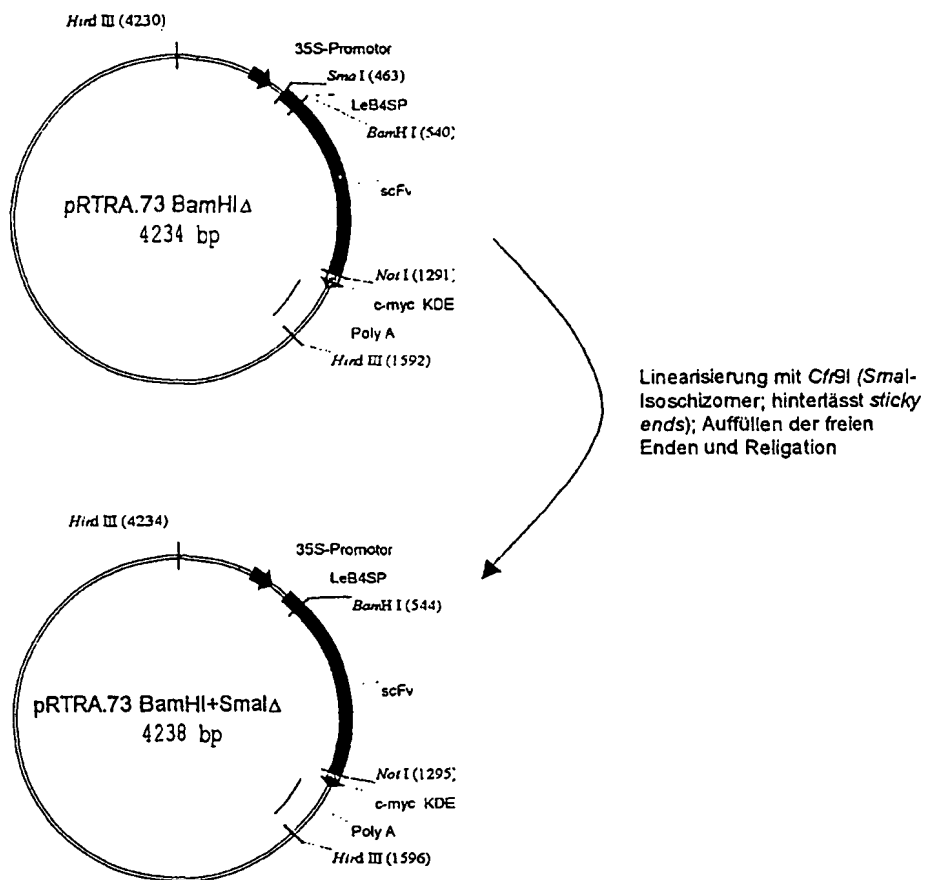
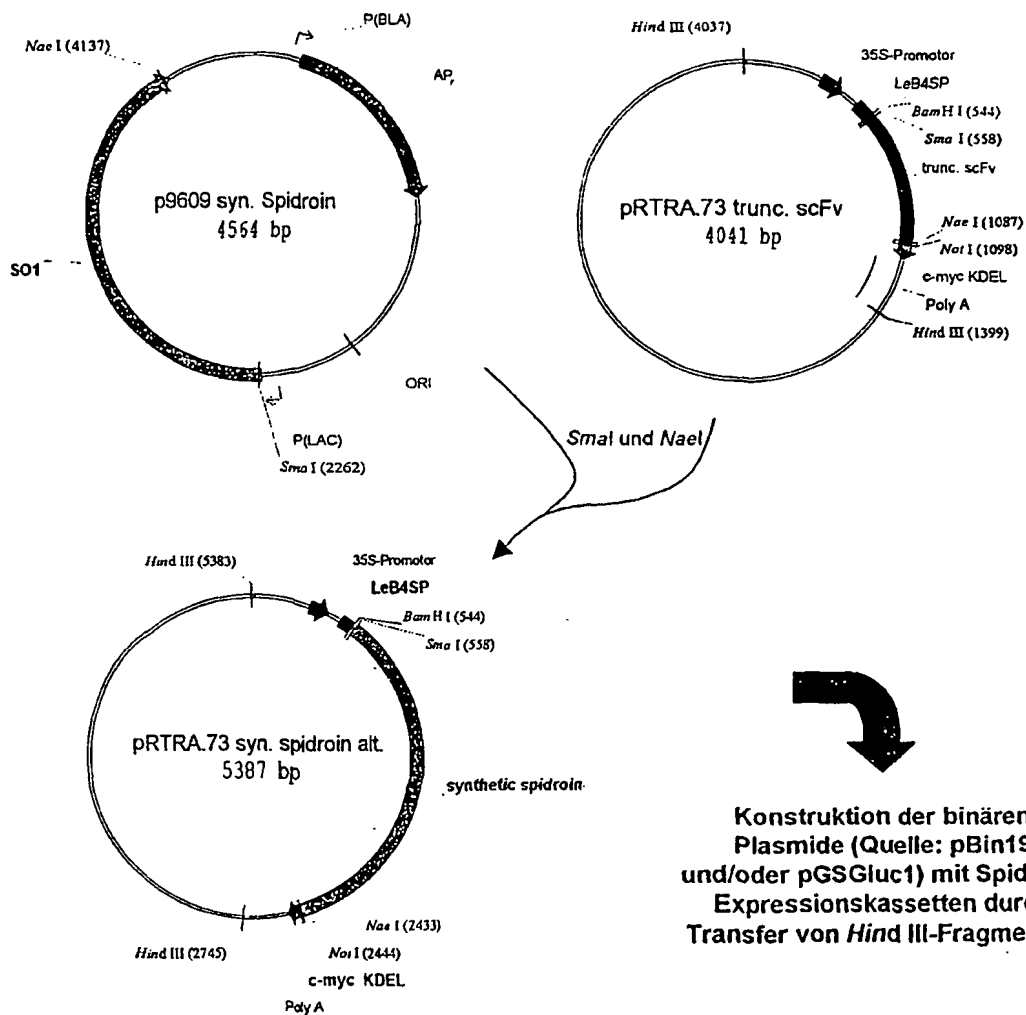
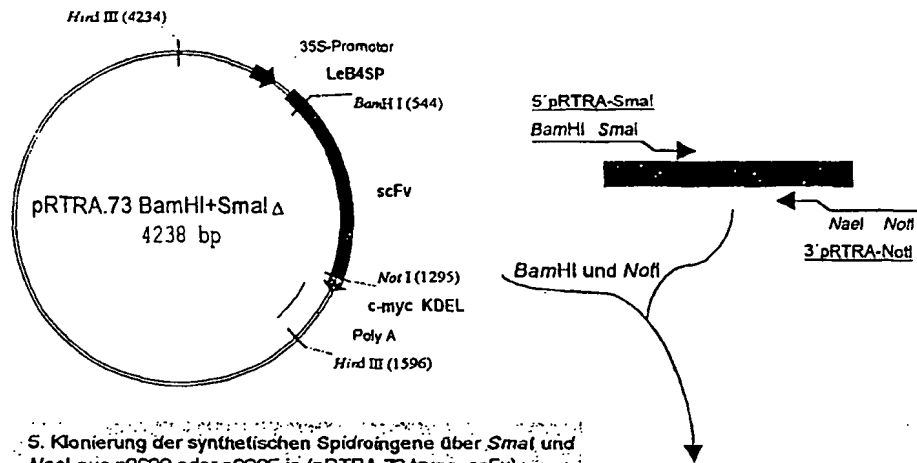


Abb. 8

4. Einführung der Restriktionserkennungssequenzen von *Sma*I und *Nae*I in den Vektor (pRTRA.73 BamHI+SmaI Δ) für die Klonierung synthetischer Spidroingene

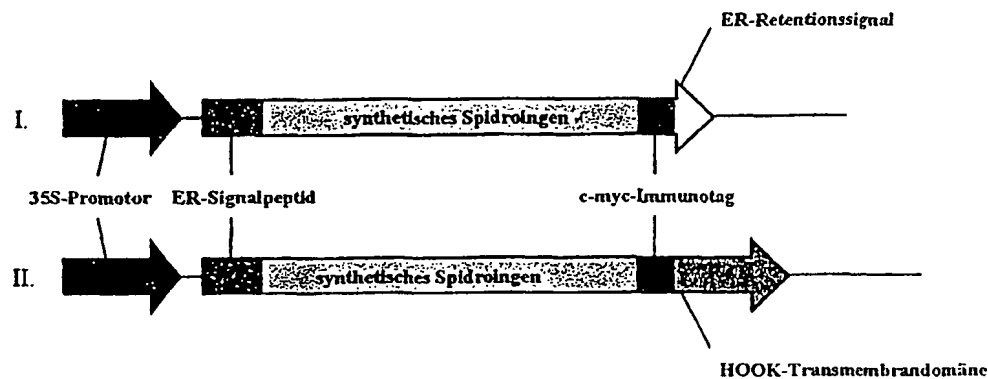


Konstruktion der binären Plasmide (Quelle: pBin19 und/oder pGSGluc1) mit Spidroin-Expressionskassetten durch Transfer von *Hind* III-Fragmenten

Abb. 9

Generelle Darstellung der Herstellung transgener Spidroin-produzierender Pflanzen

1. Konstruktion geeigneter pflanzenkompatibler Spidroinexpressionskassetten in *Escherichia coli*



a. Überprüfung der Expressionskassetten durch Sequenzierung und/oder Testexpression im pet-System in *Escherichia coli*

2. Einbringen der Expressionskassetten in shuttle-Vektoren (pBIN19; pGSGluc) in *Escherichia coli*

3. Transformation der shuttle-Vektoren in *Agrobacterium tumefaciens*-Stämme

a. Überprüfung der Klone durch Southern-Blot-Analyse

4. Herstellung transgener Tabak- und Kartoffelpflanzen

5. Analyse der transgenen Tabak- und Kartoffelpflanzen auf Spidroinproteinexpression durch immunochemische Detektion eines c-myc-Tags (Western-Analyse)

Abb. 10a

LeB4-Signalpeptid

MASKPFLSL

LSLSLLLFT

STCLAGSQLP ⇒ GQGGYGGGLGGQGAGQGGYGGGLGGQGAGQAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLGGQGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLGGQGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGQGAGGAAAAAGAGQGGGLGGRGAGQS

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGYGGGLG

AAAQGGAGGAAAAAGAGQGGGLGGRGAGQS

EQKLISEEDLNGS ⇒ KDEL.

c-myc-Immunotag ER-Retentionssignal

Abb. 10b

LeB4-Signalpeptid

MASKPFLSL

LSLSLLLFT

STCLAGSQL ⇒ GQGGYGGGLGGQGAGQGGYGGGLGGQGAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAGQGGGLG

GLGGYGGQGAGGAAAAAGAGQGGAGQG

SQQAGRGGGLGGQGAGAAAAAGGAG

AGAGAGAGSAGSGAGAGYGVGAGAGYGVGAGAGYGVGAGAGYGVGAGAGSGAGAGSGAGAGSGAGAGSGAGAGSGAGAGSGS

GTGSSGFGPYVANGGYSGYEYAWSSKSDFTAGQAAA

EQKLISEEDLNGS ⇒ KDEL.

c-myc-Immunotag ER-Retentionssignal

Abb. 11

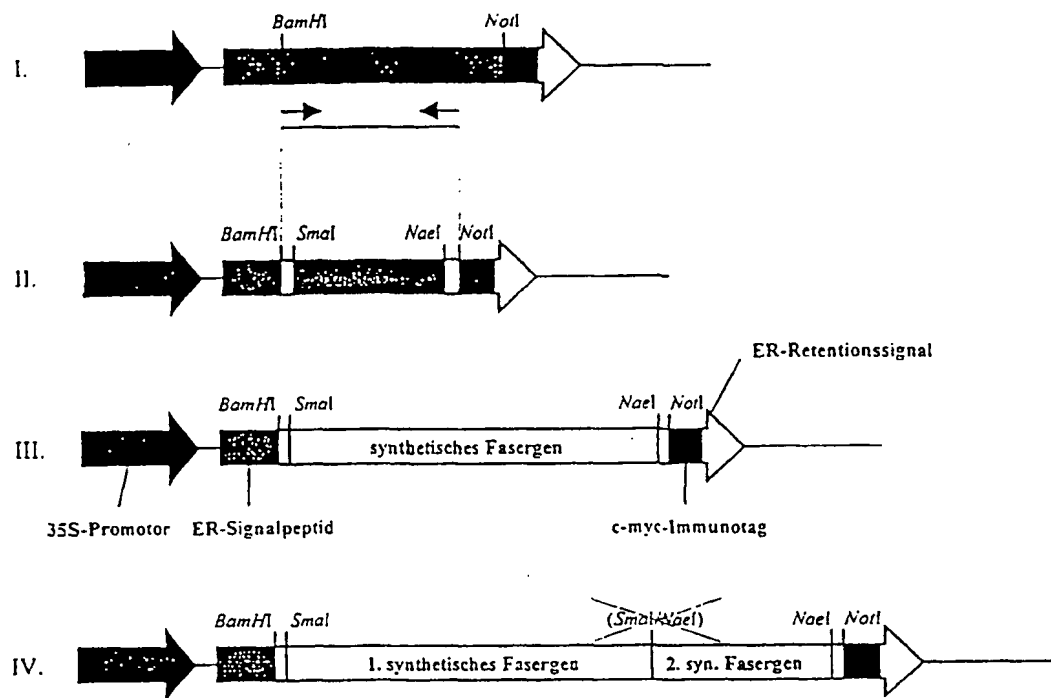
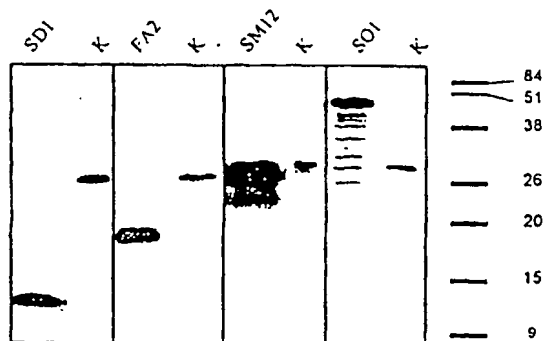
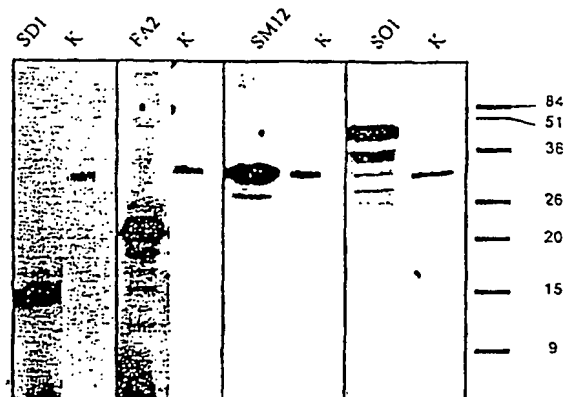


Abb. 12

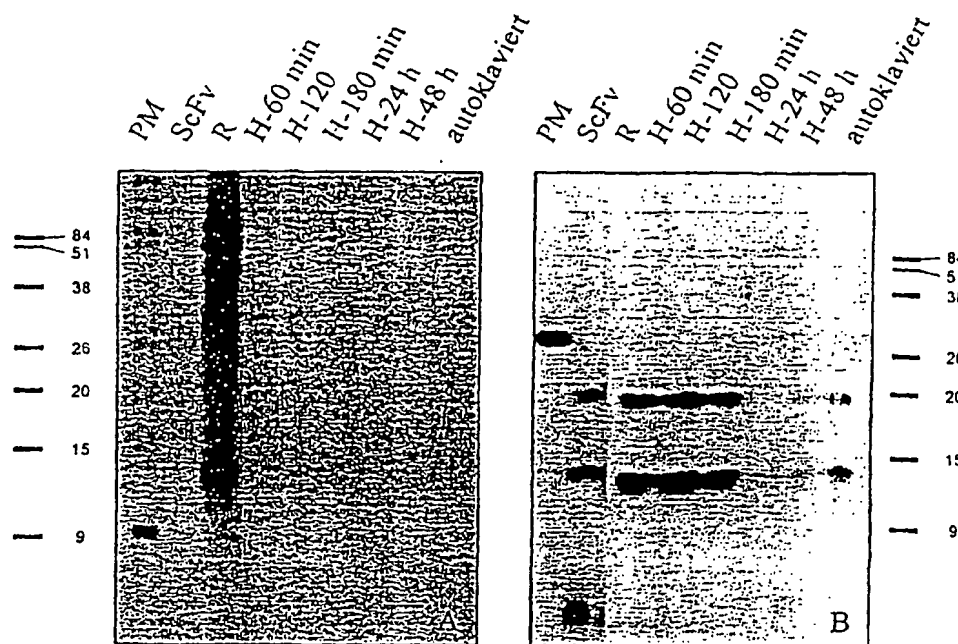


a)



b)

Abb. 13



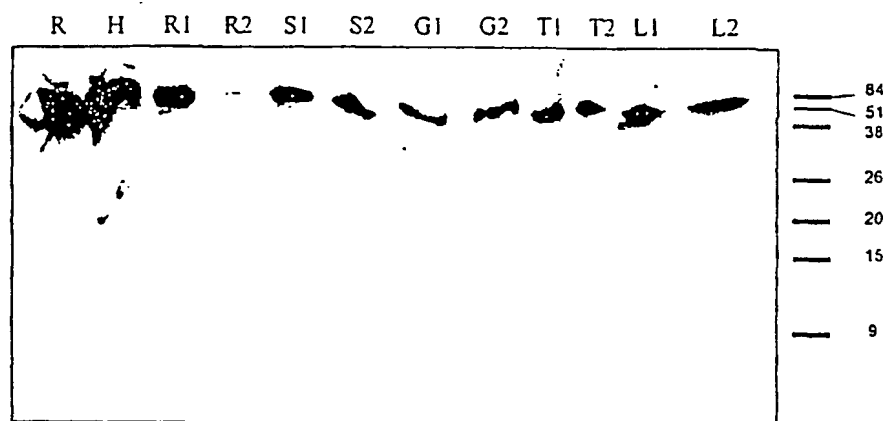


Abb. 14

Abb. 15

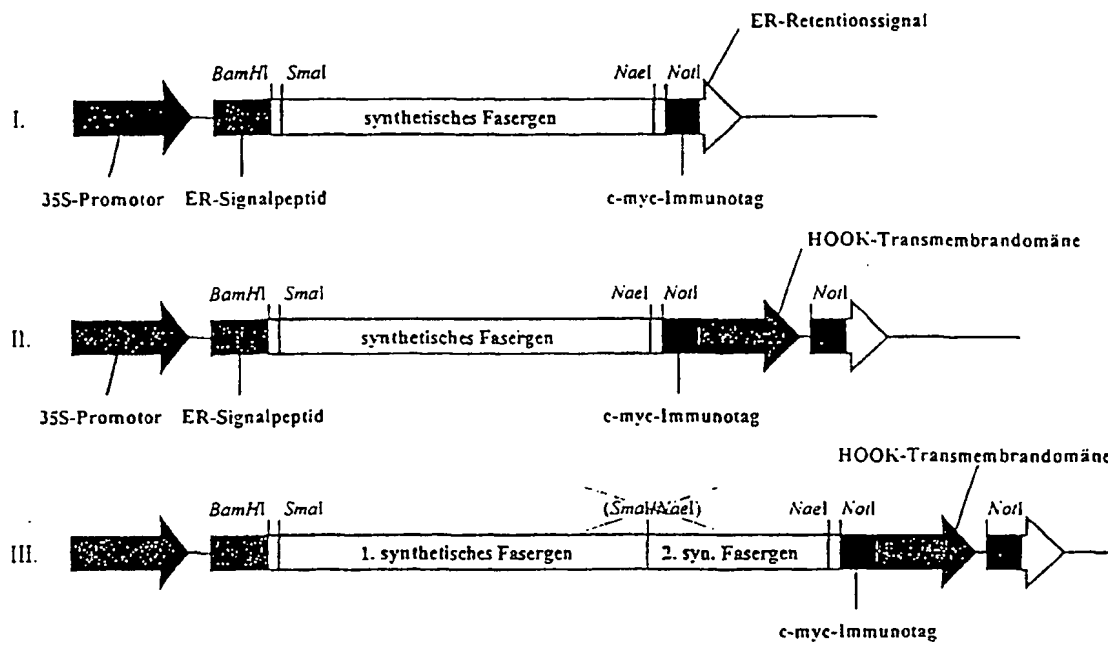
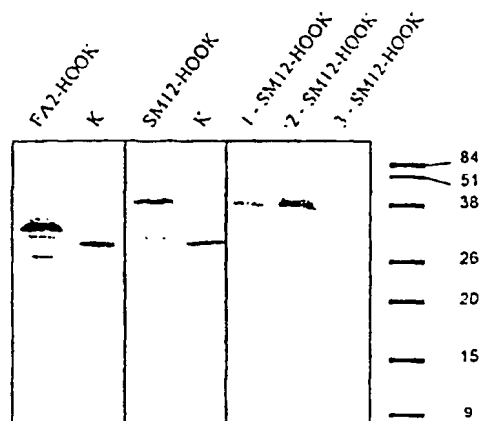


Abb. 16



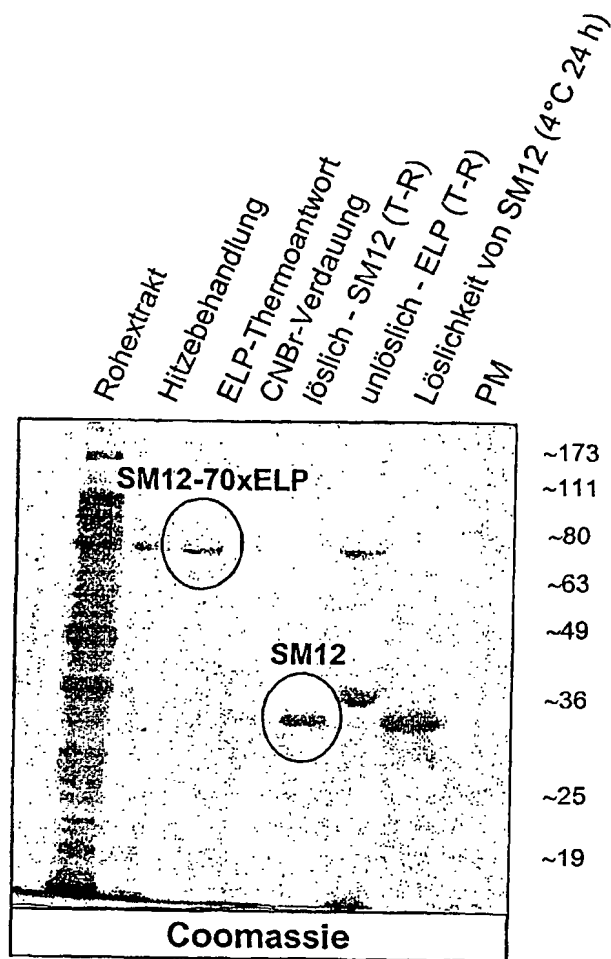
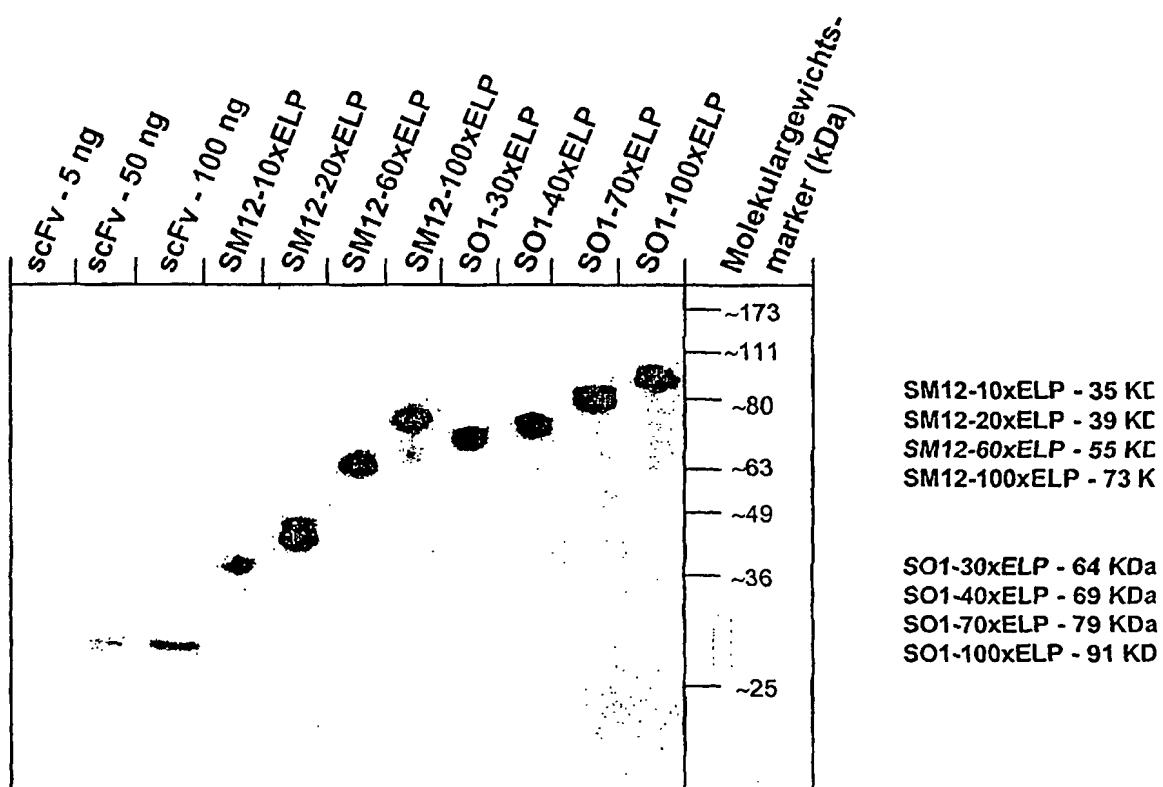


Abb. 17

Abb. 18



DNA-Sequenz von SM12-70xELP als Pflanzenexpressionskassette

atggettcctccaaacctttctctatctttgctttcactttccttgcttctctttacaagcacatg
tttagcaggatcccagttaccggggcagggaggttatgggtggtctggggggccaggggtgctg
gccaaaggaggttatgggtggtctggggagtcagggcgctggtcgtgggggactgggtggccaa
ggtgcaggagctgctgctgcagctgcaggtggagccgggcagggaggtctgggagggcaggg
agcgggccaaggtgcaggagcagctgcagcagctgcaggtggagccgggcagggaggttatg
gtggtctggggagtcagggcgctggtcgtgggggactgggtggccaaggtgcaggagcagct
gcagctgctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtggtctggggagtcaggggtgctgg
tcgtggaggccaaggtgcaggagctgcagcagcagctgcaggtggagccgggcagggaggtt
atgggtggtctggggagtcagggcgctggtcgtgggggactgggtggccaaggtgcaggagca
gctgcagctgctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtggtctggggagtcaggggtgc
tggtcgtggaggccaaggtgcaggagctgcagcagcagctgcaggtggagccgggcagggag
gttatgggtggtctggggagtcaggggtgctggtcgtggaggccaaggtgcaggagctgcagca
gcagctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtggtctggggggccaggggtgctggcca
aggaggttatgggtggtctggggagtcagggcgctggtcgtgggggactgggtggccaaggtg
caggagctgctgctgcagctgcaggtggagccgggcagggaggtctgggagggcagggagcg
ggccaaggtgcaggagcagctgcagcagctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtgg
tctggggagtcaggggtgctggtcgtggaggccaaggtgcaggagctgcagcagcagctgcag
gtggagccgggcagggaggttatgggtggtctggggagtcagggcgctggtcgtgggggactg
gggtggccaaggtgcaggagcagctgcagctgctgcaggtggagccggcggaacgcccgc
agaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaatggggccgtcgagatggggccacggcggtgg
gtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgccgggcgcaggtgttccctgggtgtagg
gtgccgggtgttgggtgtgccgggtgttgggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcgt
tccgggtggcggtgtgccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgc
cgggcgcaggtgttccctgggtgtagggtgtgccgggtgttgggtgtgccgggtgttgggtgtacca
ggtggcggtgttccgggtgcaggcgttccgggtggcggtgtgccgggcgtgggtgttccggg
cgtgggtgttccgggtggcggtgtgccgggcgcaggtgttccctgggtgtagggtgtgccgggtg
ttgggtgtgccgggtgttgggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcgttccgggtggc
ggtgtgccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgccgggcgcagg
tgttccctgggtgtagggtgtgccgggtgttgggtgtgccgggtgttgggtgtaccaggtggcggtg
ttccgggtgcaggcgttccgggtggcggtgtgccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgtt
ccgggtggcggtgtgccgggcgcaggtgttccctgggtgtagggtgtgccgggtgttgggtgtgcc
gggtgttgggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcgttccgggtggcggtgtgccgg
gcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgccgggcgcaggtgttccctgggt
gtagggtgtgccgggtgttgggtgtgccgggtgttgggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgc
aggcgttccgggtggcggtgtgccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcg
gtgtgccgggcgcaggtgttccctgggtgtagggtgtgccgggtgttgggtgtgccgggtgttgggt
gtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcgttccgggtggcggtgtgccgggcgggctggc
ggccgcagaacccaaagacgaactctag

Proteinsequenz von SM12-70xELP aus pflanzlicher Expression (SM12, c-myc-Tag, 70xELP, KDEL – jeweils durch Absatz gekennzeichnet)

MASKPFLSLLSLSLFTSTCLAGSQLPGQGGYGGLGGQGAGQGGYGGLGSQGAGRGGGLGGQ
GAGAAAAAAGGAGQGGGLGGQGAGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGGLGGQGAGAA
AAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGGLGGQGAGA
AAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAA
AAAGGAGQGGYGGLGGQGAGQGGYGGLGSQGAGRGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQGGGLGGQGA
GQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQGGYGGLGSQGAGRGGGL
GGQGAGAAAAAAGGAGGQAAA

EQKLISEEDLNGAVE

MGHGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGVGV
PGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPG
VGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVG
VPGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPG
GGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGV
GVPGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGGLAAAE

KDEL

DNA-Sequenz von SM12-70xELP als Expressionskassette für *E. coli*

atggctagcatgactgggtggacagcaaatgggtcgcggtatcccagttacccgggcagggagg
ttatgggtgggtctgggggggccaggggtgctggccaaggaggttatgggtgggtctggggagtcagg
gcgctgggtcgtgggggactgggtggccaagggtgcaggagctgctgctgcagctgcaggtgga
gccgggcagggaggtctgggagggcagggagcggggccaagggtgcaggagcagctgcagcagc
tgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtgggtctggggagtcagggcgctgggtcgtgggg
gactgggtggccaagggtgcaggagcagctgcagctgctgcaggtggagccgggcagggaggt
tatgggtgggtctggggagtcaggggtgctgggtcgtggaggccaagggtgcaggagctgcagcagc
agctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtgggtctggggagtcagggcgctgggtcgtg
ggggactgggtggccaagggtgcaggagcagctgcagctgctgcaggtggagccgggcagggga
ggttatgggtgggtctggggagtcaggggtgctgggtcgtggaggccaagggtgcaggagctgcagc
agcagctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtgggtctggggagtcaggggtgctgggtc
gtggaggccaagggtgcaggagctgcagcagcagctgcaggtggagccgggcagggaggttat
gggtgggtctggggggccaggggtgctggccaaggaggttatgggtgggtctggggagtcagggcg
tggtcgtgggggactgggtggccaagggtgcaggagctgctgctgcagctgcaggtggagccg
ggcagggaggtctgggagggcagggagcggggccaagggtgcaggagcagctgcagcagctgca
gggtggagccgggcagggaggttatgggtgggtctggggagtcaggggtgctgggtcgtggaggcca
agggtgcaggagctgcagcagcagctgcaggtggagccgggcagggaggttatgggtgggtctgg
ggagtcagggcgctgggtcgtgggggactgggtggccaagggtgcaggagcagctgcagctgct
gcaggtggagccggcggaacaaggcgccgacagaacaaaaactcatctcagaagaggatctgaa
tggggccgtcgagatggggccacggcggtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtg
tgccgggcgcaggtgttccctgggtgtaggtgtgcccgggtgttggtgtgcccgggtgttggtgta
ccaggtggcggtgttccgggtgcaggcggttccgggtggcggtgtgcccgggcgtgggtgttcc
ggcggtgggtgttccgggtggcggtgtgcccgggcgcaggtgttccctgggtgtaggtgtgcccg
gtgttggtgtgcccgggtgttggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcggttccgggt
ggcggtgtgcccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgcccgggcgc
aggtgttccctgggtgtaggtgtgcccgggtgttggtgtgcccgggtgttggtgtaccaggtggcg
gtgttccgggtgcaggcggttccgggtggcggtgtgcccgggcgtgggtgttccgggcgtgggt
gttccgggtggcggtgtgcccgggcgcaggtgttccctgggtgtaggtgtgcccgggtgttggtgt
gcccgggtgttggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcggttccgggtggcggtgtgccc
gggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgcccgggcgcaggtgttccct
gggtgtaggtgtgcccgggtgttggtgtgcccgggtgttggtgtaccaggtggcggtgttccggg
tgaggcggttccgggtggcggtgtgcccgggcgtgggtgttccgggcgtgggtgttccgggtg
gcgggtgtgcccgggcgcaggtgttccctgggtgtaggtgtgcccgggtgttggtgtgcccgggtgt
gggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcggttccgggtggcggtgtgcccgggcgtggg
tgttccgggcgtgggtgttccgggtggcggtgtgcccgggcgcaggtgttccctgggtgtaggtg
tgcccgggtgttggtgtgcccgggtgttggtgtaccaggtggcggtgttccgggtgcaggcggtt
ccgggtggcggtgtgcccgggcgggtgtggcggcgcagaacaaaaactcatctcagaagagga
tctgaatggggccgtcgagcaccaccaccaccactga

Proteinsequenz von SM12-70xELP aus bakterieller Expression (SM12, c-myc-Tag, 70xELP, c-myc-Tag, HisTag – jeweils durch Absatz gekennzeichnet)

MASMTGGQQMGRGSQLPGQQGYGGLGGQGAGQQGYGGLGSQGAGRGGGLGGQ
GAGAAAAAAGGAGQQGLGGQGAGQGAGAAAAAAGGAGQQGYGGLGSQGAGR
GLGGQGAGAAAAAAGGAGQQGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQQGY
GGLGSQGAGRGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQQGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAA
AAAGGAGQQGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQQGYGGLGGQGAGQ
GGYGGLGSQGAGRGGGLGGQGAGAAAAAAGGAGQQGLGGQGAGQGAGAAAAAA
GGAGQQGYGGLGSQGAGRGGQGAGAAAAAAGGAGQQGYGGLGSQGAGRGG
GGQGAGAAAAAAGGAGGQAAA

EQKLISEEDLNGAVE

MGHGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGV
PGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPG
VGVPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVG
VPGVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPG
GVGVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGV
GVPGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGVGVPGVGV
PGGGVPGAGVPGVGVPGVGVPGVGVPGGGVPGAGVPGGGVPGGLAAA

EQKLISEEDLNGAVEHHHHHH.

SEQUENZPROTOKOLL

<110> IPK - Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanz

<120> Synthetische Spinnenseidenproteine und deren Expression
in transgenen Pflanzen

<130> I 7222

<140>

<141>

<150> DE 100 28 212.1

<151> 2000-06-09

<150> DE 100 53 478.3

<151> 2000-10-24

<160> 51

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 1

tatgagcgct cccgggcagg gt

22

<210> 2

<211> 38

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 2

agcttttagg taccaatatt aatctggccg gctccacc

38

<210> 3

<211> 12

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 3

tatggctctgg gg

12

<210> 4

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 4

ggccagggtg ctggccaa

18

<210> 5

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 5

ggtgcaggag cwgcwgcwgc wgtgcaggt gga

33

<210> 6

<211> 28

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 6

gccggccaga ttaatatggg tacctaaa

28

<210> 7

<211> 17

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 7

ctgcccggga gcgctca

17

<210> 8

<211> 15

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 8

accaccataa cctcc

15

<210> 9

<211> 18

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 9

agcaccctgg cccccag

18

<210> 10

<211> 33

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 10

tgcagcwgcw gcwgcwgctc ctgcaccttg gcc

33

<210> 11

<211> 22

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 11

tatgagatct ggccaaggag gt

22

<210> 12

<211> 14

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 12

ttggccagat ctca

14

<210> 13

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 13

agtcagggtg ctggctcgtgg aggccaa

27

<210> 14

<211> 27

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 14

tccacgacca gcaccctgac tccccag

27

<210> 15

<211> 36

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 15

agtcagggcg ctggctcgtgg gggactgggt ggccaa

36

<210> 16

<211> 36

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 16

accagtccc ccaçgaccag cgccctgact cccag

36

<210> 17

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 17

ctgggagggc agggagcggg ccaa

24

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:repetitive
Einheit aus Spidroin-Proteinen

<400> 18

cgctccctgc cctcccagac ctcc

24

<210> 19

<211> 327

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt SB1

<400> 19

ggatcccagt tagggcaggg aggttatggt ggtctggggg gccagggtgc tggccaagga 60
 gggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtgca 120
 ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcaggagag gtctgggagg gcagggagcg 180
 ggccaaggtg caggagcagc tgcagcagct gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt 240
 ggtctgggga gtcagggtgc tggtcgtgga ggccaaggtg caggagctgc agcagcagct 300
 gcaggtggag cggacaagc ggccgca 327

<210> 20

<211> 705

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt SE1

<400> 20

ggatcccagt tagggcaggg aggttatggt ggtctggggg gccagggtgc tggccaagga 60
 gggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtgca 120
 ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcaggagag gtctgggagg gcagggagcg 180
 ggccaaggtg caggagcagc tgcagcagct gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt 240
 ggtctgggga gtcagggtgc tggtcgtggg ggactgggtg gccagggtgc aggagcagct 300
 gcagctgctg caggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcaggggtgct 360

```

ggtcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca gcagcagctg caggaggagc cgggcaggga 420
ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggctgtgggg gactgggtgg ccaaggtgca 480
ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc gggcaggag gttatggtg tctggggagt 540
cagggtgctg gtcgtggagg ccaaggtgca ggagctgcag cagcagctgc aggtggagcc 600
gggcaggag gttatggtg tctggggagt cagggtgctg gtcgtggagg ccaaggtgca 660
ggagctgcag cagcagctgc aggtggagcc ggacaagcgg ccgca 705

```

<210> 21

<211> 426

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt SD1

<400> 21

```

ggatcccagt tagggcaggg aggttatggt ggtctggggg gccagggtgc tggccaagga 60
ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggctgtgggg gactgggtgg ccaaggtgca 120
ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcaggag gtctgggagg gcagggagcg 180
ggccaaggtg caggagcagc tgcagcagct gcagggtgag ccgggcaggg aggttatggt 240
ggctctgggga gtcagggtgc tggctgtgga ggccaaggtg caggagctgc agcagcagct 300
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctgtggg 360
ggactgggtg gccaaaggtgc aggagcagct gcagctgctg caggaggagc cggacaagcg 420
gccgca 426

```

<210> 22

<211> 3783

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt
S01S01

<400> 22

```

ggatcccagt taccggggca gggaggttat ggtggtcttg ggggccaggg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt gctggccaag gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtcttg ggagtcaggg tgctggtcgt 180
ggaggccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtcttg ggagtcaggg cgctggtcgt gggggacttg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcaggtg agccgggcag ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcaggtg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaaggt 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcaggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 540
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctgtggg 600
ggactgggtg gccaaaggtgc aggagctgct gctgcagctg caggaggagc cgggcaggga 660

```


ggtctgggag ggcagggagc gggccaaggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcaggtgga 720
 gccgggagcag gaggttatgg tggctctgggg agtcaggggtg ctggctcgtgg aggccaaggt 780
 gcaggagctg cagcagcagc tgcaggtgga gccgggagcag gaggttatgg tggctctgggg 840
 ggccaggggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 900
 ggactgggtg gccaaaggtgc aggagctgct gctgcagctg caggtggagc cgggcagggga 960
 ggtctgggag ggcagggagc gggccaaggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcaggtgga 1020
 gccgggagcag gaggttatgg tggctctgggg agtcagggcg ctggctcgtgg gggactgggt 1080
 ggccaaggtg caggagcagc tgcagctgct gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt 1140
 ggtctgggga gtcaggggtgc tggctcgtgga ggccaaggtg caggagctgc agcagcagct 1200
 gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 1260
 ggactgggtg gccaaaggtgc aggagcagct gcagctgctg caggtggagc cgggcagggga 1320
 gggttatggtg gtctggggag tcaggggtgct ggtcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca 1380
 gcagcagctg caggtggagc cgggcagggga ggttatggtg gtctggggag tcaggggtgct 1440
 ggtcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca gcagcagctg caggtggagc cgggcagggga 1500
 gggttatggtg gtctgggggg ccaggggtgct ggccaaggag gttatggtgg tctggggagt 1560
 cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caaggtgcag gagctgctgc tgcagctgca 1620
 ggtggagccg ggcagggaggg tctgggaggg cagggagcgg gccaaaggtgc aggagcagct 1680
 gcagcagctg caggtggagc cgggcagggga ggttatggtg gtctggggag tcaggggtgct 1740
 ggtcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca gcagcagctg caggtggagc cgggcagggga 1800
 gggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaaggtgca 1860
 ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc gggcagggag gttatggtgg tctggggggc 1920
 caggggtgctg gccaaaggag ttatggtggt ctggggggcc aggggtgctgg ccaaggtgca 1980
 ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcagggag gttatggtgg tctggggagt 2040
 caggggtgctg gtcgtggagg ccaaggtgca ggagctgcag cagcagctgc aggtggagcc 2100
 gggcagggag gttatggtgg tctggggagt cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc 2160
 caaggtgcag gagcagctgc agctgctgca ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt 2220
 ctggggagtc aggggtgctgg tcgtggaggg caaggtgcag gagctgcagc agcagctgca 2280
 ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt ctggggagtc agggcgctgg tcgtggggga 2340
 ctgggtggcc aaggtgcagg agcagctgca gctgctgcag gtggagccgg gcagggaggt 2400
 tatggtggtc tggggggcca ggggtgctggc caaggaggtt atggtggtct ggggagtcag 2460
 ggcgctggtc gtgggggact ggggtggccaa ggtgcaggag ctgctgctgc agctgcaggt 2520
 ggagccgggc agggaggtct gggagggcag ggagccggcc aaggtgcagg agcagctgca 2580
 gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt tatggtggtc tggggagtca ggggtgctgg 2640
 cgtggaggcc aaggtgcagg agctgcagca gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt 2700
 tatggtggtc tggggggcca ggggtgctggc caaggaggtt atggtggtct ggggagtcag 2760
 ggcgctggtc gtgggggact ggggtggccaa ggtgcaggag ctgctgctgc agctgcaggt 2820
 ggagccgggc agggaggtct gggagggcag ggagccggcc aaggtgcagg agcagctgca 2880
 gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt tatggtggtc tggggagtca gggcgctgg 2940
 cgtgggggac tgggtggcca aggtgcagga gcagctgcag ctgctgcagg tggagccggg 3000
 cagggaggtt atggtggtct ggggagtcag ggtgctggtc gtggaggcca aggtgcagga 3060
 gctgcagcag cagctgcagg tggagccggg cagggaggtt atggtggtct ggggagtcag 3120
 ggcgctggtc gtgggggact ggggtggccaa ggtgcaggag cagctgcagc tgctgcaggt 3180
 ggagccgggc agggaggtta tgggtggtctg gggagtcagg gtgctggtcg tggaggccaa 3240
 ggtgcaggag ctgcagcagc agctgcaggt ggagccgggc agggaggtta tgggtggtctg 3300
 gggagtcagg gtgctggtcg tggaggccaa ggtgcaggag ctgcagcagc agctgcaggt 3360
 ggagccgggc agggaggtta tgggtggtctg gggggccagg gtgctggcca aggaggttat 3420
 ggtggtctgg ggagtcaggg cgctgggtcgt gggggactgg gtggccaagg tgcaggagct 3480
 gctgctgcag ctgcaggtgg agccgggcag ggaggtctgg gagggcaggg agcggggccaa 3540

```

ggatcccagt taccgggca gggaggttat ggtggtctg ggggcccagg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt gctggccaa gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcagggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtctg ggagtcagg tgctggtcgt 180
ggagcccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcagggt gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtctg ggagtcagg cgctggctcg gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag ggaggttat gtggtctggg ggtcagggt 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt gctggtcgtg ggggactggg tggccaagg 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 540
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 600
ggactgggtg gccaaagggtc aggagctgct gctgcagctg cagggtggag cgggcaggga 660
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagg gtaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 720
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaagg 780
gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 840
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 900
ggactgggtg gccaaagggtc aggagctgct gctgcagctg cagggtggag cgggcaggga 960
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagg gtaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 1020
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg gggactgggt 1080
ggccaagggtg caggagcagc tgcagctgct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 1140
ggtctgggga gtcagggtgc tggctcgtgga ggccaagggt caggagctgc agcagcagct 1200
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 1260
ggactgggtg gccaaagggtc aggagcagct gcagctgctg cagggtggag cgggcaggga 1320
ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca 1380
gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga gggttatggt gtctggggag tcagggtgct 1440
ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga 1500
ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct ggccaaggag gttatggtg tctggggagt 1560
cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caagggtgag gagctgctgc tgcagctgca 1620
ggtggagccg ggcagggagg tctgggaggg cagggagcgg gccaaagggtc aggagcagct 1680
gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga gggttatggt gtctggggag tcagggtgct 1740
ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga 1800
ggttatggtg gtctggggag tcaggggcgt ggtcgtggg gactgggtgg ccaagggtgca 1860

```

<210> 23

<211> 2985

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt

SO1SM12

<400> 23

```

ggatcccagt taccgggca gggaggttat ggtggtctg ggggcccagg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt gctggccaa gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcagggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtctg ggagtcagg tgctggtcgt 180
ggagcccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcagggt gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtctg ggagtcagg cgctggctcg gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag ggaggttat gtggtctggg ggtcagggt 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt gctggtcgtg ggggactggg tggccaagg 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 540
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 600
ggactgggtg gccaaagggtc aggagctgct gctgcagctg cagggtggag cgggcaggga 660
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagg gtaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 720
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaagg 780
gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 840
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 900
ggactgggtg gccaaagggtc aggagctgct gctgcagctg cagggtggag cgggcaggga 960
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagg gtaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 1020
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg gggactgggt 1080
ggccaagggtg caggagcagc tgcagctgct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 1140
ggtctgggga gtcagggtgc tggctcgtgga ggccaagggt caggagctgc agcagcagct 1200
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcg tggctcgtgg 1260
ggactgggtg gccaaagggtc aggagcagct gcagctgctg cagggtggag cgggcaggga 1320
ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca 1380
gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga gggttatggt gtctggggag tcagggtgct 1440
ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga 1500
ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct ggccaaggag gttatggtg tctggggagt 1560
cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caagggtgag gagctgctgc tgcagctgca 1620
ggtggagccg ggcagggagg tctgggaggg cagggagcgg gccaaagggtc aggagcagct 1680
gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga gggttatggt gtctggggag tcagggtgct 1740
ggtcgtggag gccaaagggtc aggagctgca gcagcagctg cagggtggag cgggcaggga 1800
ggttatggtg gtctggggag tcaggggcgt ggtcgtggg gactgggtgg ccaagggtgca 1860

```

```

ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc gggcagggag gttatggtgg tctggggggc 1920
cagggtgctg gccaaggagg ttatggtggg ctggggagtc agggcgctgg tcgtggggga 1980
ctgggtggcc aaggtgcagg agctgctgct gcagctgcag gtggagccgg gcagggagggt 2040
ctgggagggc agggagcggg ccaaggtgca ggagcagctg cagcagctgc aggtggagcc 2100
gggcagggag gttatggtgg tctggggagt cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc 2160
caaggtgcag gagcagctgc agctgctgca ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggg 2220
ctggggagtc agggtgctgg tcgtggaggg caaggtgcag gagctgcagc agcagctgca 2280
ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggg ctggggagtc agggcgctgg tcgtggggga 2340
ctgggtggcc aaggtgcagg agcagctgca gctgctgcag gtggagccgg gcagggagggt 2400
tatggtggtc tggggagtca ggggtgctgg cgtggagggc aaggtgcagg agctgcagca 2460
gcagctgcag gtggagccgg gcagggagggt tatggtggtc tggggagtca ggggtgctgg 2520
cgtggagggc aaggtgcagg agctgcagca gcagctgcag gtggagccgg gcagggagggt 2580
tatggtggtc tggggggcca ggggtgctgg caaggagggt atggtgggtc tgggagtcag 2640
ggcgctggtc gtgggggact ggggtggcca ggtgcaggag ctgctgctgc agctgcaggt 2700
ggagccgggc agggagggtc gggagggcag ggagcggggc aaggtgcagg agcagctgca 2760
gcagctgcag gtggagccgg gcagggagggt tatggtggtc tggggagtca ggggtgctgg 2820
cgtggagggc aaggtgcagg agctgcagca gcagctgcag gtggagccgg gcagggagggt 2880
tatggtggtc tggggagtca gggcgctgg cgtgggggac tgggtggcca aggtgcagga 2940
gcagctgcag ctgctgcagg tggagccggc ggacaagcgg ccgca 2985

```

<210> 24

<211> 5658

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt
 S01S01S01

<400> 24

```

ggatcccagt tacccgggca gggaggttat ggtggtctgg gggggccagg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt gctggccaag gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcagggt gagccgggca gggaggttat ggtggtctgg ggagtcaggg tgctggctcg 180
ggaggccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcagggt gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtctgg ggagtcaggg cgctggctcg gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaagggt 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 540
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 600
ggactgggtg gccaagggtg aggagctgct gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga 660
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 720
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaagggt 780
gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 840
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 900
ggactgggtg gccaagggtg aggagctgct gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga 960
ggtctgggag ggcagggagc gggccaagggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtga 1020

```

gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg agtcagggcg ctggctcgtgg gggactgggt 1080
 ggccaagggtg caggagcagc tgcagctgct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 1140
 ggtctgggga gtcagggtgc tggctcgtgga ggccaagggtg caggagctgc agcagcagct 1200
 gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 1260
 ggactgggtg gccaaagggtg aggagcagct gcagctgctg cagggtggagc cgggcaggga 1320
 ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaagggtg aggagctgca 1380
 gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct 1440
 ggtcgtggag gccaaagggtg aggagctgca gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 1500
 ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct ggccaaggag gttatggtgg tctggggagt 1560
 cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caagggtgcag gagctgctgc tgcagctgca 1620
 ggtggagccg ggcagggagg tctgggaggg caggagcgg gccaaagggtg aggagcagct 1680
 gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct 1740
 ggtcgtggag gccaaagggtg aggagctgca gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 1800
 ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtgca 1860
 ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc gggcagggag gttatggtgg tctggggggc 1920
 cagggtgctg gccaaaggag ttatggtggt ctggggggcc aggtgctgg ccaagggtgca 1980
 ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcagggag gttatggtgg tctggggagt 2040
 cagggtgctg gtcgtggagg ccaagggtgca ggagctgcag cagcagctgc aggtggagcc 2100
 gggcagggag gttatggtgg tctggggagt cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc 2160
 caagggtgcag gagcagctgc agctgctgca ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt 2220
 ctggggagtc aggtgctgg tctggaggc caagggtgcag gagctgcagc agcagctgca 2280
 ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt ctggggagtc agggcgctgg tctggggga 2340
 ctgggtggcc aagggtgcagg agcagctgca gctgctgcag gtggagccgg gcagggaggt 2400
 tatggtggtc tggggggcca ggtgctggc caaggaggtt atggtggtct ggggagtcag 2460
 ggcgctggtc gtgggggact ggtggccaa ggtgcaggag ctgctgctgc agctgcaggt 2520
 ggagccgggc agggaggtct gggagggcag ggagccgggc aagggtgcagg agcagctgca 2580
 gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt tatggtggtc tggggagtca ggtgctggt 2640
 cgtggaggcc aagggtgcagg agctgcagca gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt 2700
 tatggtggtc tggggggcca ggtgctggc caaggaggtt atggtggtct ggggagtcag 2760
 ggcgctggtc gtgggggact ggtggccaa ggtgcaggag ctgctgctgc agctgcaggt 2820
 ggagccgggc agggaggtct gggagggcag ggagccgggc aagggtgcagg agcagctgca 2880
 gcagctgcag gtggagccgg gcagggaggt tatggtggtc tggggagtca ggcgctggt 2940
 cgtgggggac tgggtggcca aggtgcagga gcagctgcag ctgctgcagg tggagccggg 3000
 cagggaggtt atggtggtct ggggagtcag ggtgctggtc gtggaggcca aggtgcagga 3060
 gctgcagcag cagctgcagg tggagccggg cagggaggtt atggtggtct ggggagtcag 3120
 ggcgctggtc gtgggggact ggtggccaa ggtgcaggag cagctgcagc tgcagcaggt 3180
 ggagccgggc agggaggtta tgggtggtct gggagtcagg gtgctggtcg tggaggccaa 3240
 ggtgcaggag ctgcagcagc agctgcaggt ggagccgggc agggaggtta tgggtggtctg 3300
 gggagtcagg gtgctggtcg tggaggccaa ggtgcaggag ctgcagcagc agctgcaggt 3360
 ggagccgggc agggaggtta tgggtggtct gggggccagg gtgctggcca aggaggttat 3420
 ggtggtctgg ggagtcaggg cgctggtcgt gggggactgg gtggccaagg tgcaggagct 3480
 gctgctgcag ctgcaggtgg agccgggcag ggaggtctgg gagggcaggg agcgggcca 3540
 ggtgcaggag cagctgcagc agctgcaggt ggagccgggc agggaggtta tgggtggtctg 3600
 gggagtcagg gtgctggtcg tggaggccaa ggtgcaggag ctgcagcagc agctgcaggt 3660
 ggagccgggc agggaggtta tgggtggtct gggagtcagg gcgctggtcg tgggggactg 3720
 ggtggccaag gtgcaggagc agctgcagct gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat 3780
 ggtggtctgg gggggccagg tgctggccaa ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt 3840
 gctggccaag gtgcaggagc tgctgctgca gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat 3900

```

ggtggtctgg ggagtcaggg tgctggtcgt ggaggccaag gtgcaggagc tgcagcagca 3960
gctgcagggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtctgg ggagtcaggg cgctggtcgt 4020
gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag 4080
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct 4140
gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggc 4200
gctggtcgtg ggggactggg tggccaaggt gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtgga 4260
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt 4320
ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg ggactgggtg gccaaaggtg aggagctgct 4380
gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggtctgggag ggcaaggagc gggccaaggt 4440
gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 4500
agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaaggt gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtgga 4560
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt 4620
ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtgg ggactgggtg gccaaaggtg aggagctgct 4680
gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggtctgggag ggcaaggagc gggccaaggt 4740
gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg 4800
agtcagggcg ctggtcgtgg gggactgggt ggccaaggtg caggagcagc tgcagctgct 4860
gcagggtgag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcagggtgc tggctcgtgga 4920
ggccaaggtg caggagctgc agcagcagct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 4980
ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtgg ggactgggtg gccaaaggtg aggagcagct 5040
gcagctgctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct 5100
ggtcgtggag gccaaaggtg aggagctgca gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 5160
ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaaggtg aggagctgca 5220
gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct 5280
ggccaaggag gttatggtg tctggggagt cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc 5340
caaggtgcag gagctgctgc tgcagctgca ggtggagccg ggcaaggagg tctgggaggg 5400
caggagcgg gccaaaggtg aggagcagct gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 5460
ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaaggtg aggagctgca 5520
gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct 5580
ggtcgtggg gactgggtg ccaaggtgca ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc 5640
ggcggacaag cggccgca 5658

```

<210> 25

<211> 672

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt FA2

<400> 25

```

ggatcccagt tagggcaggg aggttatggt ggtctggggg gccagggtgc tggccaagga 60
ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaaggtgca 120
ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc gggcagggag gtctgggagg gcagggagcg 180
ggccaaggtg caggagcagc tgcagcagct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 240
ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtgg ggactgggtg gccaaaggtg aggagcagct 300
gcagctgctg cagggtggagc cgggtccgga agtgggtgcag gtgccggaag cggagcagga 360
gccggtgccg gatctggtgc cggtgccgga agcgggtgct gtgccggaag cgggtgctggt 420

```

```

gccggatcag gagcgggtgc cggttatggt gccggagccg gtggtgggta cggagccggt 480
tatggagcgg gagccggtgt tgggtacgga gccggtgcag gttccggggc cgcaagcggc 540
gcaggagccg gtgccggagc tgggacaggg agttcaggat ttggggcccta cgttgcaaat 600
ggtggttatt caggctatga atacgcgtgg agtagtaagt ctgattttga gactgccgga 660
caagcggccg ca 672

```

<210> 26

<211> 525

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt SA1

<400> 26

```

ggatcccagt tagggcaggg aggttatggt ggtctggggg gccaggggtgc tggccaagga 60
ggttatggtg gtctgggggg ccaggggtgct ggccaagggtg caggagctgc tgctgcagct 120
gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggtgc tggtcgtgga 180
ggccaagggtg caggagctgc agcagcagct gcaggtggag ccgggcaggg aggttatggt 240
ggtctgggga gtcagggcgc tggtcgtggg ggactgggtg gccaagggtgc aggagcagct 300
gcagctgctg caggtggagc cgggcagggg ggttatggtg gtctggggag tcaggggtgct 360
ggtcgtggag gccaagggtgc aggagctgca gcagcagctg caggtggagc cgggcagggg 420
ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtgca 480
ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc ggacaagcgg ccgca 525

```

<210> 27

<211> 1908

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt S01

<400> 27

```

ggatcccagt taccggggca gggaggttat ggtggtctgg gggggccaggg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggg gctggccaag gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtctgg ggagtcaggg tgctggtcgt 180
ggaggccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcaggtg gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtctgg ggagtcaggg cgctggctgt gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcaggtgg agccgggcag ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggg 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcaggtgg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaagg 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcaggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 540
ggccaggggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggctcgtggg 600
ggactgggtg gccaagggtc aggagctgct gctgcagctg caggtggagc cgggcagggg 660
ggtctgggag ggcaggagc gggccaaggg gcaggagcag ctgcagcagc tgcaggtgga 720

```

```

gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg agtcagggtg ctggctcgtgg aggccaaggt 780
gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 840
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcgc tggctcgtggg 900
ggactgggtg gccaaaggtgc aggagctgct gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga 960
ggctctgggag ggcaggagc gggccaaggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtgga 1020
gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg agtcagggtg ctggctcgtgg gggactgggt 1080
ggccaaggtg caggagcagc tgcagctgct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt 1140
ggctctgggga gtcagggtgc tggctcgtgga ggccaaggtg caggagctgc agcagcagct 1200
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcgc tggctcgtggg 1260
ggactgggtg gccaaaggtgc aggagcagct gcagctgctg cagggtggagc cgggcaggga 1320
ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct ggtcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca 1380
gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct 1440
ggctcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 1500
ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct ggccaaggag gttatggtgg tctggggagt 1560
caggggcgtg gtcgtggggg actgggtggc caaggtgcag gagctgctgc tgcagctgca 1620
ggtggagccg ggcagggagg tctgggaggg cagggagcgg gccaaaggtgc aggagcagct 1680
gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggtgct 1740
ggctcgtggag gccaaaggtgc aggagctgca gcagcagctg cagggtggagc cgggcaggga 1800
ggttatggtg gtctggggag tcagggcgt ggtcgtgggg gactgggtgg ccaaggtgca 1860
ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc ggcggacaag cggccgca 1908

```

<210> 28

<211> 1110

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt

SM12

<400> 28

```

ggatcccagt taccggggca gggagggttat ggtggtctgg gggggcaggg tgctggccaa 60
ggagggttatg gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaaggt 120
gcaggagctg ctgctgcagc tgcagggtgga gccgggcagg gaggtctggg agggcaggga 180
gcggggccaag gtgcaggagc agctgcagca gctgcagggtg gagccgggca gggagggttat 240
ggtggtctgg ggagtcaggg cgtggtcgt gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag ggagggttat gtggtctggg gagtcagggt 360
gctggtcgtg gagggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag 420
ggagggttatg gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaaggt 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 540
agtcagggtg ctggtcgtgg agggccaaggt gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtgga 600
gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg agtcagggtg ctggtcgtgg agggccaaggt 660
gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 720
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcaggggcgc tggctcgtggg 780
ggactgggtg gccaaaggtgc aggagctgct gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga 840
ggtctgggag ggcagggagc gggccaaggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcagggtgga 900
gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg agtcagggtg ctggtcgtgg agggccaaggt 960

```

```

gcaggagctg cagcagcagc tgcaggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 1020
agtcagggcg ctggtcgtgg gggactgggt ggccaaggtg caggagcagc tgcagctgct 1080
gcaggtggag ccggcggaca agcggccgca 1110

```

<210> 29

<211> 831

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:Konstrukt SF1

<400> 29

```

ggatcccagt taccggggca gggaggttat ggtggtctgg ggggccaggg tgctggccaa 60
ggaggttatg gtggtctggg gggccagggt gctggccaag gtgcaggagc tgctgctgca 120
gctgcagggtg gagccgggca gggaggttat ggtggtctgg ggagtcaggg tgctggtcgt 180
ggaggccaag gtgcaggagc tgcagcagca gctgcagggtg gagccgggca gggaggttat 240
ggtggtctgg ggagtcaggg cgctggtcgt gggggactgg gtggccaagg tgcaggagca 300
gctgcagctg ctgcagggtg agccgggcag ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt 360
gctggtcgtg gaggccaagg tgcaggagct gcagcagcag ctgcagggtg agccgggcag 420
ggaggttatg gtggtctggg gagtcagggt gctggtcgtg ggggactggg tggccaaggt 480
gcaggagcag ctgcagctgc tgcaggtgga gccgggcagg gaggttatgg tggctctgggg 540
ggccagggtg ctggccaagg aggttatggt ggtctgggga gtcagggcgc tggtcgtggg 600
ggactgggtg gccaagggtg aggagctgct gctgcagctg cagggtggagc cgggcaggga 660
ggtctgggag ggcagggagc gggccaaggt gcaggagcag ctgcagcagc tgcaggtgga 720
gccgggcagg gaggttatgg tggctctggg agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaaggt 780
gcaggagctg cagcagcagc tgcaggtgga gccggcggac aagcggccgc a 831

```

<210> 30

<211> 104

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SB1-Protein

<400> 30

```

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
  1               5               10               15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
      20               25               30

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
      35               40               45

```


Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 85 90 95

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Ala Ala
 100

<210> 31

<211> 230

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SE1-Protein

<400> 31

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
 20 25 30

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
 35 40 45

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 165 170 175

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 180 185 190

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
 195 200 205

Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 210 215 220

Gly Ala Gly Gln Ala Ala
 225 230

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SD1-Protein

<400> 32

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
 20 25 30

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
 35 40 45

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 85 90 95

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly

100 105 110
Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
115 120 125
Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Ala Ala
130 135
<210> 33
<211> 1255
<212> PRT
<213> Künstliche Sequenz
<220>
<223> Beschreibung der künstlichen
Sequenz:SO1SO1-Protein
<400> 33
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
1 5 10 15
Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
20 25 30
Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
35 40 45
Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
50 55 60
Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
65 70 75 80
Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
85 90 95
Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
100 105 110
Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
115 120 125
Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
130 135 140
Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly
 165 170 175

Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 180 185 190

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 195 200 205

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 210 215 220

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 225 230 235 240

Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala
 245 250 255

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly
 260 265 270

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 275 280 285

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 290 295 300

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln
 305 310 315 320

Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 325 330 335

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 340 345 350

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 355 360 365

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
 370 375 380

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
 385 390 395 400

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly
 405 410 415

Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 420 425 430

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 435 440 445

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
 450 455 460

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln
 465 470 475 480

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 485 490 495

Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
 500 505 510

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
 515 520 525

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly
 530 535 540

Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 545 550 555 560

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
 565 570 575

Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 580 585 590

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 595 600 605

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 610 615 620

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 625 630 635 640

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly
 645 650 655

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
 660 665 670

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 675 680 685

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 690 695 700

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 705 710 715 720

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 725 730 735

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 740 745 750

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 755 760 765

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 770 775 780

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 785 790 795 800

Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
 805 810 815

Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 820 825 830

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly
 835 840 845

Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly
 850 855 860

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly
 865 870 875 880

Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr
 885 890 895

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 900 905 910

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly
 915 920 925

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly
930 935 940

Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
945 950 955 960

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
965 970 975

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
980 985 990

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
995 1000 1005

Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
1010 1015 1020

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
1025 1030 1035 1040

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
1045 1050 1055

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
1060 1065 1070

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
1075 1080 1085

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly
1090 1095 1100

Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly
1105 1110 1115 1120

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly
1125 1130 1135

Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly
1140 1145 1150

Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu
1155 1160 1165

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
1170 1175 1180

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 1185 1190 1195 1200

Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 1205 1210 1215

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
 1220 1225 1230

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 1235 1240 1245

Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala
 1250 1255

<210> 34

<211> 989

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen
 Sequenz: SO1SM12-Protein

<400> 34

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 35 40 45

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly
 165 170 175

Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 180 185 190

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 195 200 205

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 210 215 220

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 225 230 235 240

Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala
 245 250 255

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly
 260 265 270

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 275 280 285

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 290 295 300

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln
 305 310 315 320

Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 325 330 335

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 340 345 350

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 355 360 365

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
370 375 380

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
385 390 395 400

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly
405 410 415

Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
420 425 430

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
435 440 445

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
450 455 460

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln
465 470 475 480

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
485 490 495

Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
500 505 510

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
515 520 525

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly
530 535 540

Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly
545 550 555 560

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
565 570 575

Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
580 585 590

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
595 600 605

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
610 615 620

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 625 630 635 640

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu
 645 650 655

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
 660 665 670

Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 675 680 685

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 690 695 700

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 705 710 715 720

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 725 730 735

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 740 745 750

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 755 760 765

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 770 775 780

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 785 790 795 800

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 805 810 815

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 820 825 830

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 835 840 845

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
 850 855 860

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 865 870 875 880

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 885 890 895

Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly
 900 905 910

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
 915 920 925

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 930 935 940

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 945 950 955 960

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 965 970 975

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala
 980 985

<210> 35

<211> 1880

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen
 Sequenz:SO1SO1SO1-Protein

<400> 35

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 35 40 45

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala

	85	90	95
Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly	100	105	110
Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala	115	120	125
Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln	130	135	140
Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala	145	150	155
Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly	165	170	175
Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala	180	185	190
Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala	195	200	205
Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln	210	215	220
Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly	225	230	235
Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala	245	250	255
Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly	260	265	270
Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly	275	280	285
Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala	290	295	300
Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln	305	310	315
Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala	325	330	335
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly			

	340		345		350
Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly					
	355		360		365
Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg					
	370		375		380
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly					
	385		390		395
Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly					
	405		410		415
Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala					
	420		425		430
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly					
	435		440		445
Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln					
	450		455		460
Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln					
	465		470		475
Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly					
	485		490		495
Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly					
	500		505		510
Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala					
	515		520		525
Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly					
	530		535		540
Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly					
	545		550		555
Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly					
	565		570		575
Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala					
	580		585		590
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly					

595

600

605

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 610 615 620

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 625 630 635 640

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly
 645 650 655

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
 660 665 670

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 675 680 685

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 690 695 700

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 705 710 715 720

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 725 730 735

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 740 745 750

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 755 760 765

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 770 775 780

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 785 790 795 800

Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
 805 810 815

Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 820 825 830

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly
 835 840 845

Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly

850	855	860	
Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly			
865	870	875	880
Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr			
	885	890	895
Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu			
	900	905	910
Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly			
	915	920	925
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly			
	930	935	940
Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly			
	945	950	955
Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg			
	965	970	975
Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly			
	980	985	990
Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly			
	995	1000	1005
Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala			
	1010	1015	1020
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly			
	1025	1030	1035
Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly			
	1045	1050	1055
Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg			
	1060	1065	1070
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly			
	1075	1080	1085
Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly			
	1090	1095	1100
Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly			

1105	1110	1115	1120
Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly			
1125	1130	1135	
Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly			
1140	1145	1150	
Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu			
1155	1160	1165	
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala			
1170	1175	1180	
Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala			
1185	1190	1195	1200
Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly			
1205	1210	1215	
Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg			
1220	1225	1230	
Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly			
1235	1240	1245	
Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly			
1250	1255	1260	
Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala			
1265	1270	1275	1280
Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly			
1285	1290	1295	
Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala			
1300	1305	1310	
Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu			
1315	1320	1325	
Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly			
1330	1335	1340	
Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly			
1345	1350	1355	1360
Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala			

	1365	1370	1375
Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly			
1380	1385	1390	
Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala			
1395	1400	1405	
Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu			
1410	1415	1420	
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln			
1425	1430	1435	1440
Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala			
1445	1450	1455	
Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala			
1460	1465	1470	
Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln			
1475	1480	1485	
Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln			
1490	1495	1500	
Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly			
1505	1510	1515	1520
Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly			
1525	1530	1535	
Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala			
1540	1545	1550	
Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly			
1555	1560	1565	
Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly			
1570	1575	1580	
Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly			
1585	1590	1595	1600
Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala			
1605	1610	1615	
Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala			

1620 1625 1630

Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
1635 1640 1645

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
1650 1655 1660

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
1665 1670 1675 1680

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
1685 1690 1695

Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
1700 1705 1710

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
1715 1720 1725

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
1730 1735 1740

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr
1745 1750 1755 1760

Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln
1765 1770 1775

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
1780 1785 1790

Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
1795 1800 1805

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
1810 1815 1820

Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
1825 1830 1835 1840

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
1845 1850 1855

Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
1860 1865 1870

Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala

<210> 36

<211> 219

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:FA2-Protein

<400> 36

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
20 25 30

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
35 40 45

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Ser Gly Ser Gly Ala Gly Ala Gly
100 105 110

Ser Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ser Gly Ala Gly Ala Gly Ser Gly
115 120 125

Ala Gly Ala Gly Ser Gly Ala Gly Ala Gly Ser Gly Ala Gly Ala Gly
130 135 140

Tyr Gly Ala Gly Ala Gly Val Gly Tyr Gly Ala Gly Tyr Gly Ala Gly
145 150 155 160

Ala Gly Val Gly Tyr Gly Ala Gly Ala Gly Ser Gly Ala Ala Ser Gly
165 170 175

Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Thr Gly Ser Ser Gly Phe Gly Pro
180 185 190

Tyr Val Ala Asn Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Glu Tyr Ala Trp Ser Ser
195 200 205

Lys Ser Asp Phe Glu Thr Ala Gly Gln Ala Ala
210 215

<210> 37

<211> 170

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SA1-Protein

<400> 37

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
35 40 45

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Ala Ala
165 170

<210> 38

<211> 630

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: S01-Protein

<400> 38

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 35 40 45

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly
 165 170 175

Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 180 185 190

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala

195	200	205
Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln		
210	215	220
Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly		
225	230	235 240
Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala		
245	250	255
Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly		
260	265	270
Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly		
275	280	285
Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala		
290	295	300
Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln		
305	310	315 320
Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala		
325	330	335
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly		
340	345	350
Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly		
355	360	365
Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg		
370	375	380
Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly		
385	390	395 400
Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly		
405	410	415
Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala		
420	425	430
Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly		
435	440	445
Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln		

450 455 460
 Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln
 465 470 475 480
 Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 485 490 495
 Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
 500 505 510
 Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
 515 520 525
 Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly
 530 535 540
 Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 545 550 555 560
 Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
 565 570 575
 Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 580 585 590
 Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 595 600 605
 Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 610 615 620
 Ala Gly Gly Gln Ala Ala
 625 630

<210> 39

<211> 364

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SM12-Protein

<400> 39

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
 1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly
20 25 30

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
35 40 45

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
165 170 175

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
180 185 190

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
195 200 205

Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
210 215 220

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly
225 230 235 240

Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly
245 250 255

Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
260 265 270

Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
275 280 285

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
290 295 300

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
305 310 315 320

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
325 330 335

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
340 345 350

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala
355 360

<210> 40

<211> 271

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:SF1-Protein

<400> 40

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly
1 5 10 15

Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala
20 25 30

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
35 40 45

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
50 55 60

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
65 70 75 80

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
85 90 95

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
100 105 110

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 115 120 125

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 130 135 140

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 145 150 155 160

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly
 165 170 175

Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 180 185 190

Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 195 200 205

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 210 215 220

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 225 230 235 240

Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala
 245 250 255

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala
 260 265 270

<210> 41

<211> 182

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 10
 Pentamereinheiten

<400> 41

ctcgagatgg gccacggcgt ggggtgttcg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
 ggcgcaggtg ttccgtgtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
 ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttcg ggtggcgggtg tgccgggcgg gctggcggcc 180
 gc 182

<210> 42

<211> 332

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 20
Pentamereinheiten

<400> 42

```
ctcgagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcaggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt gctggcggcc gc 332
```

<210> 43

<211> 482

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 30
Pentamereinheiten

<400> 43

```
ctcgagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcaggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 360
ggcgcaggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 420
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt gctggcggcc 480
gc 482
```

<210> 44

<211> 632

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 40
Pentamereinheiten

<400> 44

```

ctcagagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 360
ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 420
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 480
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 540
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 600
ggtggcgggtg tgccgggcgt gctggcggcc gc 632

```

<210> 45

<211> 932

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 60
Pentamereinheiten

<400> 45

```

ctcagagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 360
ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 420
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 480
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 540
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 600
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 660
ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 720
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 780
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcagggtg ttcttggtgt aggtgtgccg 840
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 900
ggtggcgggtg tgccgggcgt gctggcggcc gc 932

```

<210> 46

<211> 1082

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 70
Pentamereinheiten

<400> 46

```
ctcgagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 360
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 420
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 480
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 540
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 600
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 660
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 720
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 780
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 840
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 900
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 960
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 1020
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt gctggcggcc 1080
gc 1082
```

<210> 47

<211> 1532

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz:ELP mit 100
Pentamereinheiten

<400> 47

```
ctcgagatgg gccacggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 60
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 120
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 180
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 240
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 300
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 360
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 420
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 480
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 540
ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg 600
ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 660
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 720
ggtggcgggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcgggtg tgccgggcgt ggggtgttccg 780
```

```

ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 840
ggtgttgggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcggtg ttccgggtgc aggcgttccg 900
ggtggcggtg tgccggggtg ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 960
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttgggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 1020
ggtggcggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcggtg tgccggggtg ggggtgttccg 1080
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 1140
ggtgttgggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcggtg ttccgggtgc aggcgttccg 1200
ggtggcggtg tgccggggtg ggggtgttccg ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg 1260
ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg ggtgttgggtg tgccgggtgt tgggtgtacca 1320
ggtggcggtg ttccgggtgc aggcgttccg ggtggcggtg tgccggggtg ggggtgttccg 1380
ggcgtgggtg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgcaggtg ttccctggtgt aggtgtgccg 1440
ggtgttgggtg tgccgggtgt tgggtgtacca ggtggcggtg ttccgggtgc aggcgttccg 1500
ggtggcggtg tgccggggtg gctggcggtg gc 1532

```

<210> 48

<211> 2322

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: SM12-70xELP
(Pflanzen)

<400> 48

```

atggcttcca aaccttttct atctttgctt tcactttcct tgcttctctt tacaagcaca 60
tgttttagcag gatcccagtt acccgggcag ggagggttatg gtggtctggg gggccagggt 120
gctggccaag gagggttatg tgggtctggg agtcaggggc ctggtcgtgg gggactgggt 180
ggccaagggt caggagctgc tgctgcagct gcagggtggag ccgggcaggg aggtctggga 240
gggcagggtg cgggccaagg tgcaggagca gctgcagcag ctgcagggtg agccgggcag 300
ggagggttat gtggtctggg gagtcagggc gctggtcgtg ggggactggg tggccaagggt 360
gcaggagcag ctgcagctgc tgcagggtga gccgggcagg gaggttatgg tgggtctggg 420
agtcagggtg ctggtcgtgg aggccaagggt gcaggagctg cagcagcagc tgcagggtga 480
gccgggcagg gaggttatgg tgggtctggg agtcaggggc ctggtcgtgg gggactgggt 540
ggccaagggt caggagcagc tgcagctgct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatgggt 600
ggtctgggga gtcagggtgc tgggtcgtga ggccaagggt caggagctgc agcagcagct 660
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatgggt ggtctgggga gtcagggtgc tgggtcgtga 720
ggccaagggt caggagctgc agcagcagct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatgggt 780
ggtctggggg gccagggtgc tggccaagga ggttatgggt gctctggggg tcagggcgct 840
ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtga ggagctgctg ctgcagctgc aggtggagcc 900
gggcagggtg gtctgggagg gcaggagcgc ggccaagggt caggagcagc tgcagcagct 960
gcagggtggag ccgggcaggg aggttatgggt ggtctgggga gtcagggtgc tgggtcgtga 1020
ggccaagggt caggagctgc agcagcagct gcagggtggag ccgggcaggg aggttatgggt 1080
ggtctgggga gtcagggcgc tgggtcgtgg ggactgggtg gccaaagggt aggagcagct 1140
gcagctgctg cagggtggag cggcggaaca gcggccgcag aacaaaaact catctcagaa 1200
gaggatctga atggggccgt cgagatgggc caggcggtgg gtgttccggg cgtgggtgtt 1260
ccgggtggcg gtgtgccggg cgcagggtgt cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg 1320
ccgggtgttg gtgtaccagg tggcggtgtt ccgggtgcag gcgttccggg tggcggtgtg 1380

```

ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt cggggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt 1440
 cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg cggggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt 1500
 ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt 1560
 ccgggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg 1620
 ccgggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg 1680
 ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt cggggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt 1740
 cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg cggggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt 1800
 ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt 1860
 ccgggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg 1920
 ccgggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg 1980
 ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt cggggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt 2040
 cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg ccgggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt 2100
 ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg ccgggcggtgg gtgttccggg cgtgggtggt 2160
 ccgggtggcg gtgtgccggg cgcaggtggt cctggtgtag gtgtgccggg tgttggtgtg 2220
 ccgggtggtg gtgtaccagg tggcgggtgtt ccgggtgcag gcgttccggg tggcgggtgtg 2280
 ccgggcgggc tggcggccgc agaaccctct ag 2322

<210> 49

<211> 773

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: SM12-70xELP
(Pflanzen)

<400> 49

Met Ala Ser Lys Pro Phe Leu Ser Leu Leu Ser Leu Ser Leu Leu Leu
1 5 10 15

Phe Thr Ser Thr Cys Leu Ala Gly Ser Gln Leu Pro Gly Gln Gly Gly
20 25 30

Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
35 40 45

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
50 55 60

Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly
65 70 75 80

Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
85 90 95

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
100 105 110

Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 115 120 125

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala
 130 135 140

Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
 145 150 155 160

Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg
 165 170 175

Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 180 185 190

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
 195 200 205

Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala
 210 215 220

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 225 230 235 240

Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln
 245 250 255

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr
 260 265 270

Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln
 275 280 285

Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly
 290 295 300

Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
 305 310 315 320

Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly
 325 330 335

Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly
 340 345 350

Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly
 355 360 365

Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala
370 375 380

Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu
385 390 395 400

Glu Asp Leu Asn Gly Ala Val Glu Met Gly His Gly Val Gly Val Pro
405 410 415

Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly
420 425 430

Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly
435 440 445

Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly
450 455 460

Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val
465 470 475 480

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro
485 490 495

Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly
500 505 510

Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala
515 520 525

Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly
530 535 540

Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val
545 550 555 560

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro
565 570 575

Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
580 585 590

Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly
595 600 605

Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly
610 615 620

Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val
625 630 635 640

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro
645 650 655

Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
660 665 670

Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val
675 680 685

Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly
690 695 700

Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val
705 710 715 720

Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro
725 730 735

Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly
740 745 750

Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Gly Leu Ala Ala Ala Glu
755 760 765

Pro Lys Asp Glu Leu
770

<210> 50

<211> 2334

<212> DNA

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: SM12-70xELP
(E.coli)

<400> 50

atggctagca tgactggtgg acagcaaattg ggtcgcggtat cccagttacc cgggcaggga 60
ggttatggtg gtctgggggg ccagggtgct ggccaaggag gttatggtgg tctggggagt 120
cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caagggtgcag gagctgctgc tgcagctgca 180
ggtggagccg ggcagggagg tctgggaggg cagggagcgg gccagggtgc aggagcagct 240
gcagcagctg caggtggagc cgggcaggga ggttatggtg gtctggggag tcagggcgct 300
ggtcgtgggg gactgggtgg ccaagggtgca ggagcagctg cagctgctgc aggtggagcc 360

```

gggcaggag gttatggtgg tctggggagt caggggtgctg gtcgtggagg ccaaggtgca 420
ggagctgcag cagcagctgc aggtggagcc gggcaggag gttatggtgg tctggggagt 480
cagggcgctg gtcgtggggg actgggtggc caaggtgcag gagcagctgc agctgctgca 540
gggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt ctggggagtc aggggtgctgg tcgtggaggc 600
caaggtgcag gagctgcagc agcagctgca ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt 660
ctggggagtc aggggtgctgg tcgtggaggc caaggtgcag gagctgcagc agcagctgca 720
gggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt ctggggggcc aggggtgctgg ccaaggagg 780
tatggtggtc tggggagtc gggcgctggt cgtgggggac tgggtggcca aggtgcagga 840
gctgctgctg cagctgcagg tggagccggg cagggaggtc tgggagggca gggagcgggc 900
caaggtgcag gagcagctgc agcagctgca ggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt 960
ctggggagtc aggggtgctgg tcgtggaggc caaggtgcag gagctgcagc agcagctgca 1020
gggtggagccg ggcagggagg ttatggtggt ctggggagtc agggcgctgg tcgtggggga 1080
ctgggtggcc aaggtgcagg agcagctgca gctgctgcag gtggagccgg cggacaagcg 1140
gccgcagaac aaaaactcat ctcagaagag gatctgaatg gggccgtcga gatgggccac 1200
ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttccg ggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc 1260
gggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgccg ggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc 1320
gggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgccg ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc 1380
gggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc  ggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc 1440
gggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc  ggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc 1500
ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc  ggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc 1560
gggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc  ggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc 1620
gggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc  ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc 1680
gggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc  ggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc 1740
gggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc  ggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc 1800
ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc  ggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc 1860
gggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc  ggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc 1920
gggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc  ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc 1980
gggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc  ggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc 2040
gggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc  ggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc 2100
ggcgtgggtg ttccgggctg ggggtgttcc  ggtggcgggtg tgccgggccc aggtgttcc 2160
gggtgtaggtg tgccgggtgt tgggtgtgcc  ggtgttgggtg taccaggtgg cgggtgttcc 2220
gggtgcaggcg ttccgggtgg cgggtgtgcc  ggcgggctgg cggccgcaga acaaaaactc 2280
atctcagaag aggatctgaa tggggccgtc gagcaccacc accaccacca ctga 2334

```

<210> 51

<211> 777

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: SM12-70xELP
(E.coli)

<400> 51

Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Gly Ser Gln Leu

1

5

10

15

Pro Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln
 20 25 30

Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu
 35 40 45

Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly
 50 55 60

Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 65 70 75 80

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 85 90 95

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
 100 105 110

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu
 115 120 125

Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala
 130 135 140

Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser
 145 150 155 160

Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
 165 170 175

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
 180 185 190

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala
 195 200 205

Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln
 210 215 220

Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala
 225 230 235 240

Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala
 245 250 255

Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly
 260 265 270

Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly
275 280 285

Ala Gly Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Gln Gly Ala Gly
290 295 300

Ala Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly
305 310 315 320

Leu Gly Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala Ala
325 330 335

Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gln Gly Gly Tyr Gly Gly Leu Gly
340 345 350

Ser Gln Gly Ala Gly Arg Gly Gly Leu Gly Gly Gln Gly Ala Gly Ala
355 360 365

Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gln Ala Ala Ala Glu Gln
370 375 380

Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly Ala Val Glu Met Gly His
385 390 395 400

Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly
405 410 415

Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val
420 425 430

Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly
435 440 445

Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val
450 455 460

Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro
465 470 475 480

Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly
485 490 495

Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly
500 505 510

Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly
515 520 525

Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val
530 535 540

Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro
545 550 555 560

Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
565 570 575

Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala
580 585 590

Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly
595 600 605

Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val Gly Val
610 615 620

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro
625 630 635 640

Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
645 650 655

Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Val
660 665 670

Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly
675 680 685

Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Val Gly Val
690 695 700

Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro
705 710 715 720

Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly
725 730 735

Gly Gly Val Pro Gly Ala Gly Val Pro Gly Gly Gly Val Pro Gly Gly
740 745 750

Leu Ala Ala Ala Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asn Gly
755 760 765

Ala Val Glu His His His His His His
770 775